Rapp

Lane Medical Library

# Beziehungen des Sauerstoffs

zur

# Gährthätigkeit der lebenden Hefezellen.

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doctorwürde

bei der

Hohen philosophischen Facultät

der

Kgl. Bayer. Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

**RUDOLF RAPP,**

Assistent am hygienischen Institut der Universität München,

aus Ichenhausen.

**München.**

Druck von R. Oldenbourg.

1898.

# Beziehungen des Sauerstoffs

zur

# Gährthätigkeit der lebenden Hefezellen.

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doctorwürde

bei der

Hohen philosophischen Facultät

der

Kgl. Bayer. Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

**RUDOLF RAPP,**

Assistent am hygienischen Institut der Universität München,

aus Ichenhausen.

**München.**

Druck von R. Oldenbourg.

1898.

Nach dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse von den Gährungserscheinungen bei der Hefe ist der chemische Theil durch die Entdeckung der Zymasegährung von E. Buchner heute wohl vorerst genügend klar dargelegt, während der biologische Theil des Gährungs-Phänomens, welcher die allgemeinen Bedingungen der Gährthätigkeit der Hefezellen und namentlich die Beziehungen des Sauerstoffs zu derselben umfasst, immer noch zu erörtern und klar zu stellen ist.

## I. Kritik der früheren Versuche.

Eine Kritik der gegenwärtigen theoretischen Ansichten über die Gährung wird immer auf Pasteur zurückgehen müssen, schon desshalb, weil wir diesem Forscher erst die gesicherte biologische Grundlage verdanken, welche die wissenschaftliche Erforschung des Problems ermöglichte, ausserdem auch, weil den theoretischen Vorstellungen Pasteur's trotz aller Mängel gewisse Grundzüge innewohnen, die sich als dauernd haltbar erwiesen haben.

Man hat sich nämlich nicht immer genügend klar gemacht, dass Pasteur's Theorie aus zwei getrennten, von einander unabhängigen Theilen besteht, einem biologischen und einem chemischen. Während der erstere die allgemeinen Bedingungen der Gährthätigkeit der Hefe präcisirt, so bezieht sich der chemische Theil der Theorie lediglich auf die Frage, durch welchen chemischen Anstoss eigentlich das Zuckermolekül zum Zerfallen in Alkohol und Kohlensäure gebracht wird. Pasteur glaubte, dass dies durch Entziehung von Sauerstoff geschehe, den die Hefe zu ihren Lebensfunctionen benöthige. Merkwürdigerweise ist nun gerade dieser chemische Theil der Theorie eines so bedeutenden Chemikers längst als unhaltbar erkannt und durch die Entdeckung der Zymasegährung durch E. Buchner

wohl endgültig widerlegt, während der biologische Theil der Theorie zunächst in seinem Hauptpunkte, der Lehre vom ursächlichen Zusammenhang zwischen Lebensthätigkeit der Hefezellen und Gährungsvorgang, vollkommen feststeht, aber auch im übrigen für das biologische Verständniss des ganzen Vorgangs sich durchaus werthvoll erweist. Demgemäss soll im folgenden ausschliesslich die biologische Seite der Pasteur'schen Theorie näher berücksichtigt werden, während die Frage, durch welchen chemischen Anstoss der Zerfall des Zuckermoleküls eigentlich bedingt sei, nach unserer Ueberzeugung, wie erwähnt, durch die Zymaseentdeckung bereits ihre Erledigung gefunden hat. Trotzdem, und obwohl von dieser letzteren Thatsache hier zunächst ganz abgesehen werden soll, bleibt doch der biologische Theil des Phänomens, welcher die allgemeinen Bedingungen der Gährthätigkeit der Hefezelle und namentlich die Beziehungen des Sauerstoffs zu derselben umfasst, nach wie vor zu erörtern und klarzustellen.

Ueber die biologische Seite seiner Theorie hatte sich Pasteur bereits 1861 ausgesprochen und die nach seiner Ansicht grundlegenden Versuche über den Sauerstoffeinfluss auf die Gährung veröffentlicht [1]), hat aber dann 1876 in seinen »Etudes sur la bière«, unter Hinzufügung weiteren Versuchsmaterials seine Auffassung nochmals eingehend und endgültig niedergelegt.

Pasteur hatte richtig erkannt, dass das biologische Verhalten der Hefezellen beurtheilt werden müsse in Analogie zum Verhalten derjenigen Mycelpilze, welche, wie z. B. gewisse Mucorineen, an freier Luft eine absolut aërobische Existenz ohne jede Gährthätigkeit zeigen, untergetaucht in zuckerhaltige Flüssigkeit aber, bei beschränktem O-Zutritt, die bekannten Sprossformen bilden und alkoholische Gährung bewirken. Nachdem wir die Saccharomyceten unter allen Umständen in phylogenetischem Zusammenhang mit bestimmten Mycelpilzen (dem Zeugniss von

1) Compt. rend. de l'Académie des Sciences T. 52, 1861, p. 1260. Ferner namentlich: »Influence de l'oxygène sur le développement de la levûre et sur la fermentation alcoolique. Bulletin de la Société chimique de Paris. 28. juin 1861.«

de Bary zufolge am ehesten mit den Ascomyceten) uns denken müssen, so erscheint eine solche Vorstellungsweise biologisch nicht nur erlaubt, sondern geboten.[1])

Aus dieser biologischen Grundauffassung ergibt sich aber folgendes weitere. Wenn nämlich die Hefe eigentlich von Hause aus ein aërobischer Organismus ist, der nur unter dem Zwange äusserer abnormaler Bedingungen, nämlich der beschränkten O-Zufuhr, seine durch Anpassung erworbene Befähigung zur Gährleistung entfaltet, so müssen die eigentlichen Hauptlebensäusserungen dieses Organismus doch immer bei vollem O-Zutritt am besten von statten gehen. Diese vitalen Hauptfunctionen sind aber Wachsthum und Zellvermehrung, und damit: Bildung zahlreicher jugendlicher kräftiger, protoplasmareicher Zellen. Von diesen nahm aber Pasteur folgerichtig an — und dies ist ein wichtiger, von den Späteren vielfach übersehener Punkt — dass sie nicht nur für weitere Bethätigung der Hauptlebensfunctionen, nämlich Wachsthum und weitere Zellvermehrung, sondern ausserdem auch für die Anpassungsfunction der Gährthätigkeit am besten geeignet sein müssten.[2]) Um das Verhältniss genau zu präcisiren, würden wir jetzt etwa sagen: Pasteur betrachtete den durch volle

1) »Welch deutlicherer Beweis«, sagt Pasteur (Etudes s. l. b. p. 252), liesse sich für diese Theorie anführen, als die früher auseinandergesetzte Thatsache, »dass gewöhnliche Schimmelpilze den Fermentcharakter annehmen, wenn man sie ohne Luft oder mit zu wenig Luft leben lässt, als dass ihre Organe insoweit davon umgeben wären, wie es zum Leben für aërobische Pflanzen erfordert wird.« Die Fermente besitzen also nur in besonderem Grade eine, vielen, wenn nicht allen gewöhnlichen Schimmelpilzen zugehörige Eigenschaft, welche wahrscheinlich mehr oder weniger alle lebenden Zellen besitzen, zugleich Aërobien oder Anaërobien zu sein, je nach den Bedingungen, unter die man sie versetzt.«

2) »On peut conclure en toute rigueur«, sagt Pasteur (E. s. l. b. p. 247), »de l'ensemble des faits que j'ai observés, que la levûre qui vit en présence de l'oxygène, qui peut en assimiler autant que cela est nécessaire à sa complète nutrition, cesse d'être ferment d'une manière absolue. Toutefois, la levûre formée dans ces conditions, mise en présence du sucre, *à l'abri de l'air*, en décomposerait plus, *dans un temps donné*, qu'à un autre quelconque de ses états. C'est que la levûre qui a été formée à l'air, avec le maximum du gaz oxygène libre qu'elle peut assimiler, a plus de jeunesse ou d'activité vitale que si elle a été formée sans air ou avec insuffisance d'air.«

Sauerstoffernährung bedingten reichlichen Gehalt der Hefezellen an Plasma als die potentielle Ursache der Gährleistung; (d. h. als die Vorbedingung einer überhaupt reichlichen Zymasebildung); dagegen erkannte er als das auslösende Moment für die Gährthätigkeit (d. h. für thatsächliche Zymasebildung) umgekehrt die Beschränkung bezw. den Mangel an Sauerstoff. Der hierin scheinbar liegende Widerspruch wird durch die oben dargelegte Grundansicht Pasteur's erklärt und beseitigt. Anderseits erwächst aber aus der Complicirtheit dieses Verhältnisses, da der Sauerstoff in gewissem Sinne fördernd, in anderem aber umgekehrt hemmend auf die Gährleistung einwirken soll, eine unverkennbare Schwierigkeit für die Deutung von Versuchsergebnissen, wenn es sich darum handelt, zu entscheiden, ob dieselben Pasteur's Theorie widerlegen oder mit derselben vereinbar sein sollen. Und diese Schwierigkeit wächst noch, da Pasteur als auslösendes Moment für Gährungserregung keineswegs den absoluten O-Mangel verlangte. Es genügt nach ihm, »dass das Leben sich vollzieht ohne freien Sauerstoff oder mit Mengen dieses Gases, ungenügend für alle Vorgänge der Ernährung und Assimilation.« (E. s. l. b. pag. 252.)

Behält man dies im Auge, dann verlieren eine Menge von Versuchen Späterer, die angeblich Pasteur's Theorie widerlegten, ihre Beweiskraft. Denn es ist schwer zu beurtheilen, bei welchem Punkte für die Zelle eines aërobischen Organismus der relative O-Mangel beginnen soll. Vielleicht ist dies schon der Fall, wenn die Zelle überhaupt in Flüssigkeit untergetaucht, also nicht mehr ganz an der freien Oberfläche einer Flüssigkeit oder eines festen Substrats sich befindet, selbst für den Fall, dass die Flüssigkeit mit Sauerstoff ad maximum gesättigt sei. Wenn sich dies wirklich so verhielte, dann würden vielleicht sämmtliche Gährungsversuche mit Hefe, die je angestellt wurden, auch diejenigen mit möglichst gesteigerter O- resp. Luftzufuhr unter die Categorie derjenigen fallen, bei denen relativer O-Mangel als auslösendes Moment für Gährungserregung in Betracht kommen könnte.

Die biologischen Vorstellungen Pasteur's sind also ziemlich dehnbarer Art, erlauben einen ziemlichen Spielraum, und es

ist jedenfalls nicht ganz leicht, Versuchsbedingungen herzustellen, welche eine präcise Entscheidung entweder für oder gegen die Theorie ermöglichen. Alle bisherigen Versuche erscheinen desshalb nicht als genügend. Der Vollständigkeit halber seien aber die wichtigsten Untersuchungen über die Beziehungen des Sauerstoffs zum Gährungsvorgang hier kurz zusammengestellt.

Pasteur selbst beschränkte sich auf den Versuch, nachzuweisen, dass die Intensität der Gährleistung bei O-Zutritt geringer sei als bei O-Mangel, ein Nachweis, der ihm jedoch keineswegs gelungen ist. Allerdings zeigte er, dass Zuckerlösung mit einer Spur Hefe versetzt bei der Vergärung sehr verschiedene Resultate ergeben kann, je nachdem die Gährung in einem geschlossenen luftbefreiten Kolben erfolgt, oder in einem weiten ganz flachen Glasgefäss bei ungehindertem Luftzutritt. Während bei Luftabschluss das Trockengewicht der schliesslich vorhandenen Hefe zu jenem des vergorenen Zuckers sich verhielt wie: 1:89, so betrug dieses Verhältniss in dem flachen offenen Glasgefäss 1:8 und in einem späteren Versuche sogar nur 1:4. Nach Pasteur war dadurch bewiesen, dass in letzterem Falle in Anbetracht des reichlichen O-Zutritts das auslösende Moment für Gährthätigkeit fehlte, und dass desshalb die einzelne Hefezelle eine wesentlich geringere Gährleistung entfaltet habe.

Das mag vielleicht zutreffen, aber sicher lässt sich dieser Schluss aus den Versuchen nicht ziehen. Wir sehen dabei zunächst ab von Naegeli's kritischer Berechnung, welche von der Annahme ausging, als ob in Pasteur's Versuchen jedesmal aller Zucker vergoren wäre, was nach Pasteur's eignen Angaben (Etudes sur la bière pag. 244) nicht ganz zutrifft. Immerhin hatte Naegeli den wunden Punkt der Pasteur'schen Aufstellungen vollständig richtig erkannt, der in der Nichtberücksichtigung des zeitlichen Moments gelegen ist, wie das übrigens schon Schützenberger in seinem 1875 erschienenen Werke über die Gährung zutreffend auseinandergesetzt hatte. Man könne, heisst es da, die Stärke der Gährleistung nicht, wie Pasteur will, einfach aus der Beziehung zwischen zerlegter

Zuckermenge und Gewicht der gebildeten Hefe errechnen, sondern die »Energie des Ferments« sei gegeben durch die von einer bestimmten, als Einheit angenommenen Hefenmenge in der Zeiteinheit zerlegte Zuckermenge. Von dieser Grundlage ausgehend hatte schon Schützenberger, wie später Naegeli, aus Pasteur's Versuchen genau das Entgegengesetzte gefolgert von demjenigen, was Pasteur selbst geschlossen hatte.

Bei Pasteur's Versuchen mit Luftabschluss war nämlich die Gährung langsam verlaufen, während anderseits seine Versuche mit reichlichem Luftzutritt in dem flachen Gefäss relativ frühzeitig, z. B. nach 48 Stunden, unterbrochen wurden. Diese Verschiedenheit der Zeitdauer glaubte Pasteur als gleichgiltig ausser Betracht lassen zu können. »Ob die chemische Arbeitsleistung der Zuckerzerlegung«, sagt er (Etudes sur la bière pag. 246), »sich in einem Tag oder einem Monat oder Jahr vollzieht, ändert nichts an ihrem Werth, so wenig, als die mechanische Arbeitsleistung der Förderung einer Tonne von Material vom Boden bis auf den Giebel eines Hauses durch den Umstand sich ändert, ob diese Arbeit in 12 Stunden oder in einer einzigen geleistet wird. Das Zeitmoment gehört nicht zur Definition der Arbeitsleistung.« Und ferner: Schützenberger habe nicht bemerkt, »dass er durch Berücksichtigung des zeitlichen Moments bei der Definition der Fermentenergie die vitale Aktivität der Zellen mit hereinzieht, welche von ihrem Charakter als Ferment unabhängig ist.« Letzteres zeigt allerdings, wie scharf Pasteur zwischen der Lebensthätigkeit der Zelle an sich und ihrer Gährthätigkeit zu trennen bestrebt war. Man versteht seinen Gedankengang, ohne ihn jedoch billigen zu können. Denn es ist unmöglich, die Gährleistung von der Lebensthätigkeit der Hefe in dieser Weise unabhängig zu denken, und Pasteur geräth hier mit der biologischen Grundlage seiner eigenen Theorie in vollen Widerspruch. Mag man sich über die Natur des chemischen Anstosses, welcher zum Zerfall des Zuckermoleküls führt, irgend eine beliebige Vorstellung machen, würde man selbst die Sauerstoffentziehungs-Hypothese Pasteur's gelten lassen, so müsste doch auch diese letztere Wirkung in innigster Abhängigkeit von den

vitalen Vorgängen in der Zelle gedacht werden. Und eben dies gilt, wenn man das lebende Plasma der Hefezelle als directe Ursache der Gährung auffasst, wie es Naegeli wollte, oder wenn man nach den neuesten Ergebnissen die von der Hefezelle gebildete Zymase als Trägerin der Contactwirkung anerkennt.

Die Gährleistung kann also unmöglich von der Lebensthätigkeit der Zelle unabhängig gedacht werden, und eben desshalb muss, wenn es sich um die Intensität der Gährleistung handelt, die Zeitdauer unbedingt in Rechnung gezogen werden, ebenso wie bei jeder anderen, von einer lebendigen Zelle oder einem lebenden Organismus ausgeübten Funktion. Das Irrthümliche bei Pasteur's Nichtberücksichtigung des zeitlichen Moments tritt übrigens ganz klar schon in Folgendem zu Tage: Pasteur hatte zwei Versuche mit einander verglichen, den einen mit Luftausschluss, den anderen in flachen, offenen Gefässen mit ungehemmtem Luftzutritt. Beim ersteren Versuch, bei dem die Gährung in einem luftleer gemachten Kolben erfolgt, kommt alles darauf an, wie lang man den Versuch dauern lässt. Bei der, unter diesen Umständen sehr langsamen Hefenvermehrung wird das Verhältnis $\frac{\text{Hefengewicht}}{\text{vergorene Zuckermenge}}$ immer kleiner werden, je später wir den Versuch unterbrechen, vorausgesetzt, dass immer noch vergährbarer Zucker vorhanden ist. Für die zu beweisende These hat es aber in diesem Falle nur Werth, wenn jenes Verhältnis möglichst klein wird, und muss man desshalb den Versuch, wie es auch Pasteur that, möglichst lange, d. h. bis zum völligen Verbrauch des Zuckers fortsetzen.

Ganz anders steht es bei der zweiten Versuchsanordnung. Da hier die Hefe unter dem O-Einfluss rasch sich vermehrt, so ist von vorneherein ganz unentschieden, ob das Verhältnis $\frac{\text{Hefengewicht}}{\text{vergorene Zuckermenge}}$ mit der Dauer des Versuches sich allmählich ändern wird oder nicht. Aus Pasteur's Darstellung geht aber hervor, dass es sich thatsächlich ändert, da er bei Unterbrechung nach 48 Stunden das Verhältnis $\frac{1}{8{,}1}$, wenn er

aber bereits nach 24 Stunden den Versuch beendete, das Verhältnis $\frac{1}{4}$ erhielt. Der Zeitpunkt der Unterbrechung des Versuches und damit auch die Grösse der zu gewinnenden Verhältniszahl liegen also im Belieben des Experimentators, womit solche Feststellungen ihren Werth verlieren.

Es bleibt also bei Naegeli's Constatirung, wonach in solchen Versuchen, wie jenen Pasteur's, die mit einer kleinen Menge sich stetig vermehrender Hefe ausgeführt werden, »die Leistung der einzelnen Zelle nur aus der Summation der ganzen betreffenden Reihe berechnet werden kann; sie hat ihr genaues Maass in der Menge des zerlegten Zuckers, getheilt durch die Summe der Produkte aus den wirksam gewesenen Hefemengen und ihren Zeiten« [1]). Da nun aber die Progression in der Zunahme der Hefezellen unbekannt ist, so kann die erforderliche Summation nicht ausgeführt werden, und diese Schwierigkeit erhebt sich in allen derartigen Versuchen. Man hat deshalb gestrebt, die Vermehrung der Hefezllen auszuschalten, indem man die Gährung in reiner Zuckerlösung ablaufen liess, und Naegeli hat selbst derartige Versuche angestellt, die aber an dem Fehler übermässig grosser Aussaatmengen von Hefe leiden, wodurch zweifellos Vermehrung der Hefezellen ermöglicht wurde. Indem nämlich viele Hefezellen, die schwächeren und älteren unter ihnen, in Involution gerathen und ihre plasmatischen Inhaltsstoffe ausscheiden, so können sich andere jugendliche Zellen dieser Nahrungsstoffe bemächtigen und auf Grund dessen Wachsthum und Vermehrung zeigen, wie dies Naegeli gelegentlich selbst auseinandergesetzt hat.

Dieser Fall lässt sich nur vermeiden durch Anwendung kleiner Aussaatmengen von Hefe in reiner Zuckerlösung, und solche Versuche sind denn auch in neuester Zeit aus dem botanischen Institut der Universität Leipzig von Chudiakow publicirt worden [2]).

---

1) Theorie der Gährung 1879, S. 19.

2) Untersuchungen über die alkoholische Gährung. Von Dr. N. v. Chudiakow, Assistent am botanischen Institut Leipzig. Preuss. landw. Jahrb.,

Diese Untersuchungen haben nun aber ein durchaus unerwartetes, mit allen bisherigen Erfahrungen in unvereinbarem Widerspruch stehendes Resultat ergeben, wie unten sogleich näher ausgeführt werden wird. Dieser Widerspruch mit den bisherigen Erfahrungen erscheint umso merkwürdiger, als die Versuche Chudiakow's sehr zahlreich sind und in chemischer Hinsicht nach einer exacten Methode angestellt wurden. Da überdies Pfeffer in seiner neuen Pflanzenphysiologie dieselben in Schutz nimmt und Chudiakow's Resultate vertritt[1]), so war eine eingehende experimentale Nachprüfung, so zeitraubend und mühselig dieselbe auch sein mochte, unbedingt geboten, wenn man nicht darauf verzichten wollte, in die Beziehungen des Sauerstoffs zur Gährthätigkeit der Hefe überhaupt jemals Klarheit gebracht zu sehen. Diese Nachprüfung ist ausgeführt und soll im Folgenden, da sie zu einer vollständigen Widerlegung der Angaben Chudiakow's geführt hat, ausführlich mitgetheilt werden. Vorerst aber sei historisch noch Folgendes bemerkt:

Die Frage der O-Einwirkung auf den Gährungsvorgang wurde schon vielfach studirt. Ausser A. Mayer[2]), dessen Untersuchungen über den Einfluss des Sauerstoffs auf die Gährung darthaten, dass Gährung bei vollem O-Zutritt — wenn beispielsweise die Hefe auf Fliesspapier ausgebreitet wurde — möglich sei, hatten auch Andere im Princip ähnliche Resultate erhalten[3]). So zeigte N. J. Brown[4]), dass in Dextrosehefewasser unter Bedingungen, welche nach seiner Ansicht Hefevermehrung ausschlossen, bei Luftdurchleitung immer etwas höhere Kohlensäuremengen durch Gährung erhalten wurden, als bei H-Durchleitung. Den gleichen fördernden Einfluss des Sauerstoffs für »Gährung ohne Sprossung«, d.h. bei gehemmter Vermehrung, erhielt van Laer[5])

---

herausgegeben von Dr. H. Thiel, 23. Bd. Berlin. P. Parey, 1894, S. 391 bis S. 534. Mit 5 Tafeln.

1) W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I. Bd. Leipzig 1897. S. 566.

2) Lehrbuch der Gährungschemie. IV. Aufl. S. 189.

3) Z. B. Pedersen, Hansen, Meddelelser 1878, 1879.

4) Koch's Jahresbericht 1892, S. 101.

5) Koch's Jahresbericht 1893, S. 137.

während Iwanowsky[1]) nachwies, dass der grössere oder geringere Zutritt von Sauerstoff keinen Einfluss auf die Zerlegung des Zuckers durch Hefe ausübt, sowie dass auch bei Züchtung der Hefepilze an der Luft, also bei vollstem Luftgenuss, noch Gährung stattfindet. Schliesslich sei erwähnt, dass E. Buchner[2]) bei einer Spaltpilzgährung durch Bac. Fitz. den Einfluss der Sauerstoffzufuhr auf die Vergährung des Glycerins prüfte und bei Sauerstoffzufuhr eine stärkere Vergährung des Glycerins erhielt, wenn auch allerdings bei Berechnung der Gährleistung auf die einzelne Pilzzelle sich bei Anwesenheit von Sauerstoff eine geringere Grösse ergab.

Als allgemeines Resultat dieser Versuche kann man betrachten, dass jedenfalls Pasteur's theoretische Formulirung wesentlich eingeschränkt, wenn nicht ganz aufgegeben werden müsse. Es liess sich eben nicht nachweisen, dass zur Gährungserregung ein höherer Grad von O-Mangel Voraussetzung sei, oder umgekehrt: ein hemmender Einfluss des Sauerstoffs auf den Gährungsvorgang in irgend erheblichem Grade konnte absolut nicht constatirt werden.

Es war der erwähnten Arbeit von Chudiakow vorbehalten, diesen Nachweis scheinbar zu erbringen und damit alle unsere bisherige Einsicht in den Gährungsvorgang zu annulliren. Wir müssen uns daher mit dieser Arbeit eingehend beschäftigen.

## II. Untersuchungen von Chudiakow.

Von diesen, im botanischen Institut der Universität Leipzig ausgeführten Untersuchungen[3]) interessirt uns hier nur derjenige Theil, welcher sich auf die Gährung in reinem Zuckerwasser bei Luft- und anderseits bei Wasserstoff-Durchleitung bezieht, und zwar mit Hefeaussaaten, deren Kleinheit die Vermehrung jugendlicher Zellen, wie oben erwähnt, ausschloss. In dieser Weise werden im Ganzen 87 Versuche mit allen einzelnen Zahlenergebnissen mitgetheilt, aus denen hervorgeht, dass bei Luft-

1) Koch's Jahresbericht 1894, S. 116.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie 1885.
3) a. a. O.

durchleitung die anfangs ca. 20—60 mg $CO_2$ betragende Gasproduction, d. h. Gährung, sich schon nach wenig Stunden auffällig verminderte und nahezu auf Null zurückging, während bei Wasserstoffdurchleitung die $CO_2$-Production lange Zeit hindurch constant blieb, um erst viel später abzusinken. Ein Beispiel mag dies veranschaulichen, nämlich derjenige Versuch, den Chudiakow selbst S. 439 als Beispiel im Texte anführt.

**Versuch 11.**

| | Gährung A bei Luftzutritt | Gährung B bei Luftabschluss. |
|---|---|---|
| 1. Stunde | 24,2 mg $CO_2$ | 22,8 mg $CO_2$ |
| 2. » | 20,2 » » | 23,6 » » |
| 3. » | 12,8 » » | 24,4 » » |
| 4. » | 9,2 » » | 20,8 » » |
| 5. » | 6,4 » » | 21,2 » » |
| 6. » | 4,8 » » | 20,4 » » |
| 7. » | 3,6 » » | 19,8 » » |
| 8. » | 4,2 » » | 20,8 » » |
| 9. » | 2,5 » » | 21,2 » » |

Nach Beendigung dieses Versuches betrug die Gesammtmenge der producirten $CO_2$

bei Luftzutritt 119,2 mg $CO_2$
bei Luftabschluss 442,2 » »

Die Alkoholbestimmungen ferner ergaben entsprechende Werthe; im Versuche bei Luftzutritt wurden nur 0,084 g gebildet, während bei dem correspondirenden Versuch das Gewicht des producirten Alkohols 0,398 g betrug.

Folglich war, so schliesst Chudiakow, das Gesammtresultat der Gährung bei Abschluss von Luft ungefähr 3,5 mal günstiger als bei Sauerstoffzutritt. » Der Sauerstoff begünstigt die Gährung also unter diesen Bedingungen nicht, wie Naegeli beweisen wollte, sondern macht im Gegentheil sie durchaus unmöglich.« Chudiakow spricht dann von »der Thatsache der Hemmung der Gährthätigkeit in reinem Zuckerwasser, welche durch die mitgetheilten Versuche ausser allen Zweifel gestellt ist«; und allerdings ergab sich bei allen seinen zahlreichen Versuchen mit

Luftdurchleitung immer dieselbe merkwürdige Erscheinung, nämlich in der Regel schon in der 4.—5. Stunde eine ganz ausserordentliche und dauernde Herabminderung der $CO_2$-Production.

Ueber die Ursachen dieser ganz unerwarteten, allen bisherigen Erfahrungen widersprechenden Erscheinung ist sich nun aber Chudiakow offenbar nicht klar geworden. Er sagt zwar resumirend (S. 428) darüber: »Bei Anwendung kleiner Quantitäten Hefe tritt in reinem Zuckerwasser allmählich ein Absterben der Hefezellen ein, welches schliesslich dazu führt, dass die Gährung nach Verlauf von einer bestimmten Zeit nicht wieder hervorgerufen werden kann, selbst wenn man normale Bedingungen für das Wachsthum herstellt.« Daraus wäre also zu schliessen, dass der Sauerstoff nach Chudiakow nicht auf den Gährungsvorgang als solchen hemmend und schädigend wirkt, sondern auf die Lebensthätigkeit der Hefezellen. Und das scheint auch Chudiakow's Meinung zu sein, nachdem derselbe S. 450 selbst einen, unter sonst gleichen Bedingungen, wie die früheren, aber anstatt mit blosser Zuckerlösung diesmal mit Bierwürze unternommenen Versuch anführt, in welchem trotz Luftdurchleitung keine Hemmung der Gährthätigkeit, sondern im Gegentheil eine bedeutende Steigerung der stündlichen $CO_2$-Production (entsprechend der Hefenvermehrung) erfolgte. Chudiakow schliesst aus diesem Versuch (S. 451) wohl ganz richtig, dass »der Sauerstoff hier gar keine Wirkung auf die Gährung« — d. h. auf den Gährungsvorgang an sich — »weder eine begünstigende, noch eine hemmende ausübt.«

Wie erklärt sich dann aber die Hemmung der Gährthätigkeit bei den Versuchen mit Luftdurchleitung durch Zuckerlösung? Es bleibt nur das erwähnte »Absterben der Hefezellen«, und da ist es denn sehr merkwürdig, dass Chudiakow dieses von ihm selbst zuerst (S. 428) als Resultat seiner Versuche constatirte Absterben später wiederum als Ursache der Hemmung direct bestreitet. »Dieses Zurückgehen der $CO_2$-Production konnte nicht durch Absterben der Hefe erklärt werden,« heisst es auf S. 436, und nun wird, im directen Widerspruch mit dem oben citirten, auf S. 450 angeführten Versuch mit Bierwürze,

erklärt, es liege am nächsten anzunehmen, dass die Hemmung des Gährungsvorgangs direct durch den Sauerstoff bedingt sei. Hieraus geht überzeugend hervor, dass Chudiakow der von ihm übernommenen Aufgabe in logisch-kritischer Beziehung nicht gewachsen war.

Noch viel merkwürdiger als diese Widersprüche in der fundamentalsten Frage der ganzen Untersuchung ist der Umstand, dass Chudiakow das »Absterben der Hefezellen«, das von ihm S. 428 als Resultat constatirt worden war, gar nicht direct durch Probekulturen geprüft hat! Ueberhaupt fehlen in der ganzen Arbeit alle und jede Angaben über mikroskopische Untersuchung der verwendeten Hefen! Im Zeitalter der Reinkultur hat Chudiakow nicht mit reincultivirter Hefe, sondern mit »sogenannter Unterhefe aus der Uhlrich'schen Brauerei in Leipzig« seine Versuche durchgeführt, die er von Biertrebern und Hopfenresten erst durch Waschen mit Wasser befreien musste.

Trotz dieser gewaltigen Mängel würden die nach guten, chemischen Methoden erhaltenen Resulate Chudiakow's ihre Bedeutung behalten, wenn es sich dabei wirklich um eine neue Thatsache über den Einfluss des Sauerstoffs auf die Gährleistung der Hefe handeln sollte. Allerdings würde man diese Thatsache, so wie sie von Chudiakow formulirt ist, nämlich die hemmende Wirkung des Sauerstoffs auf gährende, in Zuckerlösung befindliche Hefezellen, mit unseren bisherigen Kenntnissen absolut nicht vereinbaren können. Denn Zuckerlösungen sind für Hefezellen vollkommen unschädlich, eignen sich sogar nach Erfahrung competentester Fachmänner (z. B. Duclaux) ganz besonders gut zur jahrelangen Conservirung von Hefe. Und ebenso ist vom Sauerstoff durch alle bisherigen Forschungen ein schädlicher Einfluss auf Hefezellen niemals erwiesen worden, ja gerade nach Pasteur's theoretischer Ansicht, welche hierin unzweifelhaft gerade das Richtige trifft, ist es der Sauerstoff, der nicht nur überhaupt die Vermehrung der Hefe begünstigt, sondern besonders die Bildung jugendlicher und kräftiger Zellen befördert. Zwei an und für sich günstige Einflüsse, Zuckerlösung und

Sauerstoff würden also in Combination mit einemmal eine schädigende Bedeutung gewinnen und entweder »Absterben der Hefezellen« oder überhaupt Hemmung der Gährthätigkeit bewirken sollen. Dieses Ergebnis würde jedenfalls ganz und gar für sich bestehen, es wäre mit keiner der vorhandenen Theorien irgendwie vereinbar, und man hätte daher erwarten sollen, dass Chudiakow eine eigne theoretische Vorstellung an dasselbe anknüpfen werde.

## III. Nachprüfung der Versuche Chudiakow's.

### Allgemeines.

Trotz der grossen inneren Unwahrscheinlichkeit, welche von vorneherein gegen die Richtigkeit der Ergebnisse von Chudiakow vorlag, schien es uns bei der gegenseitigen Uebereinstimmung aller von ihm mitgetheilten zahlreichen Versuchsprotokolle, welche einen gröberen Irrthum absolut ausschloss, erforderlich, die Versuche Chudiakow's zu wiederholen.

Dabei wurde derselbe Apparat und im wesentlichen dieselbe Anordnung benutzt, wie sie von Chudiakow ausführlich geschildert und abgebildet sind. Das Gährgefäss von Chudiakow erscheint sehr glücklich gewählt — ein umgekehrter Erlenmeyer-Kolben, an dessen ausgezogenem Halse schwanenhalsförmig eine Röhre (mit Kugel) angeblasen, an dessen Boden aber eine Halsöffnung angeschmolzen ist. Wir benutzten die gleiche Einrichtung, welche bewirkt, dass das eingeleitete Gas die ganze Flüssigkeitssäule passiren muss, so dass die Hefe nie zum Absitzen kommen kann und sämmtliche Theilchen im Kolben fast ständig in Bewegung sich befanden.

Durch ein solches, mit entsprechender Nährlösung gefülltes Gährgefäss wurde bei Chudiakow gut gereinigter Wasserstoff geleitet, durch ein zweites, analoges Gährgefäss dagegen von $CO_2$ etc. befreite Luft mittelst der Wasserstrahlluftpumpe gesaugt. An das Gährgefäss reihte sich zunächst ein Condensationsgefäss für Alkohol, ein Waschgefäss mit Schwefelsäure, dann zwei Chlorcalciumröhren; die Absorption der Kohlensäure erfolgte mittelst Natronkalkröhren in der Weise, dass durch Ein-

schaltung eines Dreiweghahnes jede Stunde ohne Zeitverlust rechts oder links die Röhre entfernt und gewogen werden konnte.

Zur Nachprüfung bedienten wir uns derselben Versuchsanordnung; nur blieb das Condensationsgefäss für Alkohol hiebei weg, da von einer Alkoholbestimmung mit Ausnahme von zwei Versuchen, wegen der im vorliegenden Falle kaum zu vermeidenden Ungenauigkeit derselben Abstand genommen wurde. Bei der Ausführung der Versuche hat Chudiakow ferner einige wesentliche Punkte zu wenig beachtet, so vor allem die genaue Bestimmung der durch die Gährflüssigkeiten durchgeleiteten Gasmengen. Um letztere zu ermöglichen, haben wir anstatt der von Chudiakow angewendeten Durchsaugung das Pressionsverfahren zur Anwendung gebracht. Diese Methode einzuschlagen, war schon desshalb rathsam, weil man zunächst besser den Apparat auf das Dichtsein prüfen, und zweitens weil auf diese Weise die durchgeleiteten Mengen Luft resp. Wasserstoff genau gemessen werden können. Diese Messung geschieht mittels zweier $2^1/_2$ Liter-Flaschen, welche am Schlusse des ganzen Apparates eingeschaltet wurden. Durch eine solche Anordnung nur war es möglich, zu jeder Zeit zu beobachten, ob bei Gährung A und B die Durchleitung gleichmässig verläuft oder nicht.

Natürlich wurde diese Messmethode nur während der üblichen Arbeitsstunden ausgeführt, und es galt, für die Zeit der Abwesenheit, besonders während der Nachtstunden einen entsprechenden Ersatz zu finden, so dass der Versuch auch zu dieser Zeit möglichst gleichmässig verlaufen musste. Zu diesem Zwecke wurden 2 gleichgrosse Pettenkofer'sche Absorptionsröhren an Stelle der Messflaschen aufgestellt. Hiebei war nur ein geringer Druck zu überwinden, und ausserdem konnten die Gasblasen nach Grösse und Zahl genau regulirt werden.

Leider waren wir gezwungen, während der Nachtstunden geringere Mengen Gas durch die Gährgefässe zu leiten, weil der zur Verfügung stehende Gasometer keine so bedeutenden Mengen Luft fasste. Die Folge war, dass am Morgen dann bei Rückkehr zur obigen Messmethode in der ersten Stunde öfters höhere $CO_2$-Zahlen wegen Anhäufung dieses Gases erhalten wurden.

Als sehr nothwendig ergab sich eine weitere, sogenannte Sammel-Natronkalkröhre und daran reihend ein Chlorcalciumrohr hinter den übrigen Absorptionsröhren einzuschalten; im Uebrigen stimmte unsere Anordnung genau mit der von Chudiakow überein.

Hefe. Zur Aussaat wurde von Chudiakow Brauereihefe verwendet, die er, wie es scheint, nie mikroskopisch auf ihre Reinheit untersucht hat.[1])

Wir verdanken die von uns verwendeten Reinculturen Herrn Professor L. Aubry (Director der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München). Herr Dr. H. Will, Abtheilungsvorstand an der wissenschaftlichen Station für Brauerei theilt uns über dieselben mit:

»Die beiden Hefenstämme 7 und 24 sind untergährige Bierhefen. Stamm 7 (von Staltach stammend) ist eine typisch träge und niedrig vergährende Hefe. Die Vermehrung ist eine verhältnissmässig langsame. Ausgezeichnet ist dieselbe von vielen anderen Hefen durch sog. Riesenzellen im Hefenabsatze. Die Sporenbildung geht unter den Bedingungen, unter welchen sich dieselbe bei anderen Hefen leicht vollzieht, sehr schwer von statten. Soweit ich bis jetzt darüber unterrichtet bin, zeichnet sich die Hefe auch durch grösseres Luftbedürfniss aus und entwickelt dementsprechend sehr rasch die Kahmhautgeneration. Die Verflüssigung von Gelatine tritt in Stichculturen sehr spät ein.

---

1) Wir lassen seine Angaben der Wichtigkeit halber wörtlich folgen: »Die Hefe (die ich zu meinen Versuchen benutzte war sogenannte Unterhefe aus der Uhlrich'schen Brauerei in Leipzig; von der Isolirung und Reinkultivirung einer besonderen Species der Hefe wurde Abstand genommen, weil für die Entscheidung so allgemeiner Fragen, wie sie uns hier beschäftigen, es nicht von Bedeutung schien) wurde in destillirtem Wasser fein vertheilt und nachdem zu der Hefe mechanisch beigemengte Biertreber- und Hopfenreste sich abgesetzt hatten, die darüber stehende Flüssigkeit mit den darin fein vertheilten Hefezellen abgegossen. Diese Hefe wurde nochmals fünf- bis sechsmal mit Wasser übergossen und dekantirt. Hievon ward eine kleine Portion zu 75 ccm Nährlösung und davon wieder nach 10 Minuten Stehenlassen 25 ccm zu 200 ccm Nährlösung genommen, und erst dann gelangten je 60 ccm hievon zu dem Versuche.«

Die Wachsthumsform der Hefe auf Gelatine in Einzelculturen ist eine charakteristische und von den meisten untergährigen Bierhefen abweichende, indem dieselbe derjenigen vieler wilder Hefen ähnlich ist; die Riesencolonien stellen einen eigenen Typus dar. Eine Reihe von Beobachtungen über diese eigenthümliche Hefe wird erst im Laufe der nächsten Monate mitgetheilt werden[1].«

»Vom Hefe-Stamm 24 sind mir zur Zeit wesentlich nur die technisch wichtigsten Eigenschaften bekannt. Derselbe stammt aus Danzig und repräsentirt einen eigenartigen Typus, wie er von einzelnen norddeutschen Brauereien gewünscht wird. Soweit mir die Hefe in morphologischer Beziehung bekannt ist, bietet sie keine von der Mehrzahl der untergährigen Bierhefen abweichende Eigenschaften dar. Die Vermehrung der Hefe ist eine verhältnissmässig langsame.«

»Die Hefe 25 stammt aus einer berühmten Kehlheimer Weissbierbrauerei (Weizenbier) und stellt den Typus einer obergährigen Bierhefe dar. Es handelt sich hier jedenfalls um eine sehr alte Heferasse, nachdem, wie der Besitzer der Brauerei mitgetheilt hat, der betreffende »Zeug« schon seit »undenklichen« Zeiten in der Brauerei geführt wird. Die Sporenbildung vollzieht sich bei dieser Hefe leicht.«

In den ersten 4 Versuchen wurde mit unseren Hefereinculturen genau nach den obigen Angaben von Chudiakow verfahren. Unsere in klarer Bierwürze gezüchteten Hefen bedurften keiner Reinigung von Biertrebern, Hopfenresten etc. und besassen nicht die flockige Beschaffenheit, wie solche gewöhnlich den aus Brauereien bezogenen Hefen eigen ist. Für die weiteren Versuche genügte nach Abgiessen der Gährflüssigkeit ein 2maliges Auswaschen mit sterilem Wasser. Eine stärkere Aufschwemmung hievon wurde zu einer grösseren Quantität 10 proc. Zuckerlösung gegeben. Nach kurzem Stehenlassen wurde die obere Portion abgegossen und diese nach kräftigem Schütteln in die Gährgefässe gebracht. Es ist verständlich, dass es nicht leicht war, jedesmal gerade genau die Menge Hefe zu treffen, welche erforderlich war,

1) Näheres über Hefenstamm 7 in der Zeitschrift für das gesammte Brauwesen 1895.

um die gewünschte Anzahl mgr $CO_2$ pr. Stunde zu erhalten. Im Grossen und Ganzen ist uns dies aber durchaus gelungen. Jedenfalls haben wir in einer Anzahl von Versuchen geringere Anfangs-Kohlensäuremengen erhalten, als Chudiakow in denjenigen seiner Versuche, welche maximale Anfangsmengen von $CO_2$ zeigen, so dass nicht etwa das Bedenken erhoben werden kann, wir hätten stets mit grösseren Hefe-Aussaaten gearbeitet und desshalb von vornherein nicht die gleichen Resultate erhalten können, wie Chudiakow, der die Bedeutung der kleinen Hefe-Aussaatmengen für das Gelingen seiner Versuche ja wiederholt hervorhebt. Beispielsweise in den Versuchen VIII, XII, XIII, XIV und XIX seiner ersten Reihe hatte Chudiakow für die erste Stunde $CO_2$-Mengen von 49,8—84,0 mg erhalten, während wir in vielen Versuchen mit einer wesentlich geringeren $CO_2$-Production, also einer kleineren Hefenaussaat begonnen haben.

Als Nährlösung resp. Gährflüssigkeit benutzten auch wir zunächst wie Chudiakow je 60 ccm Zuckerlösung für jedes Gährgefäss; später aber gingen wir aus verschiedenen, namentlich praktischen Gründen zu je 100 ccm Flüssigkeit über. Ebenso wurde Anfangs der durch die Gährung zersetzte Zucker nach jeder Stunde wieder ersetzt, da nach Chudiakow's Meinung dadurch erreicht wird, dass die bei der Gährung eintretenden Veränderungen auf ein Minimum reducirt würden. In der That aber wird erstens nur der Zucker ersetzt, an welchem bei der schwachen Gährung kein Mangel ist, zweitens wird, wenn auch unbedeutend, die Lösung verdünnt. Zu Gunsten der Hauptsache jedoch, für die Entfernung der bei der Gährung auftretenden Spaltungs- und Zersetzungsproducte wurde durch diese Einrichtung nur sehr wenig erreicht. Diese Ergänzung von Zucker wurde daher nur in den 4 ersten Versuchen ausgeführt; dann wurde, da sich keine Unterschiede ergaben, ganz hievon Abstand genommen, zumal später ohnehin viele Zuckerbestimmungen (Tabelle X) gemacht worden sind, und zwar um einen Vergleich zwischen dem verschwundenen Zucker und der producirten Kohlensäure ziehen zu können. Der Zucker ward hiebei stets gewichtsanalytisch nach Allihn bestimmt.

Um über die Anzahl der vorhandenen Hefezellen einen Aufschluss zu bekommen, wurden Zählungen mittelst Bierwürzegelatineplatten ausgeführt. Die hiezu nöthige Gährflüssigkeit wurde nach Bedarf mittelst Capillarrohr, das in einer Bohrung des Stopfens eingeführt war, aufgesaugt, mit sterilem Wasser verdünnt, und hievon wurden Platten angefertigt. Da wir aber keine befriedigenden Resultate erhielten, bevorzugten wir die Wägung der Hefe, vor und nach dem Versuche (Tabelle XI). Die Filtration, Trocknung und Wägung geschah in sog. Gooch-schen Tiegeln, in welchen durch die Asbestschichte die Filtration schnell vor sich ging. Gegen dieses Verfahren könnten gewisse Einwände erhoben werden; in Folge dessen wurde im Versuch XIII nebenher eine Hefezählung mittelst der Zählkammer (Hämatometer) nach bekannten Angaben ausgeführt. Es soll hier ganz besonders bemerkt werden, dass in unseren Versuchen möglichst steril gearbeitet und sehr häufig mikroskopische Prüfungen auf die Reinheit der Hefe und die Sprossungen etc. derselben gemacht wurden. Auch Bestimmungen der Säurezahl sind gelegentlich angestellt worden.

## IV. Ergebnisse unserer Versuche.

Um es kurz zu sagen, waren die Ergebnisse unserer Versuche vollständig denjenigen von Chudiakow entgegengesetzt. Während dieser Autor bei Luftdurchleitung in Zuckerlösung stets ein rasches, schon nach wenig Stunden bemerkbares Herabsinken der Gährleistung constatirte, so war in allen unseren Versuchen von einer derartigen raschen Hemmung der Gährthätigkeit nichts zu constatiren. Der Verlauf der Gährung gestaltete sich vielmehr bei Luftdurchleitung wesentlich ebenso wie bei Wasserstoffdurchleitung.

Namentlich auch die ersten Versuche (Versuch I a mit Hefestamm Nr. 7, Versuche I b, II., III. mit Hefestamm Nr. 24, Tabelle I), bei denen möglichst genau nach Angabe von Chudiakow mit Zuckerersatz gearbeitet wurde, ergaben, dass die $CO_2$-Mengen bei Gährung A und B ganz gleichwerthig sind, dass also eine Abnahme bei Durchlüftung, wie sie Chudiakow beobachtet

hat, nicht stattfindet. Die $CO_2$-Mengen in der ersten Stunde waren hier 45—52 mg, stiegen noch während der zweiten Stunde etwas, um dann wieder abzunehmen und nach 7—8 Stunden ziemlich constant zu bleiben. Z. B.:

**Versuch III.**

| | Wasserstoff- | Luftdurchleitung | |
|---|---|---|---|
| In der 1. Stunde . . . . . | 49,0 mg $CO_2$ | 50,0 mg $CO_2$ | } 1. Tag |
| von der 1. bis zur 5. Stunde je | 45,8 » » | 48,4 » » | |
| in der 6. Stunde . . . . . | 38,0 » » | 56,0 » » | |
| » » 24. » . . . . . | 13,0 » » | 14,0 » » | } 2. Tag |
| » » 25. » . . . . . | 14,0 » » | 14,0 » » | |
| von der 33. bis zu 46½. St. je | 13,0 » » | 14,0 » » | 3. Tag |

Die Gährungen wurden auf 9, 24, 47 und 50 Stunden ausgedehnt, ohne dass wir jemals innerhalb dieser Zeit eine hemmende Beeinflussungvon Seite des Sauerstoffes der Luft beobachten konnten, wie sie Chudiakow gefunden. Vergleicht man die Zahlen der Gesammt-Kohlensäure-Production nach Abschluss eines jeden Versuches, so sind zwar die Zahlen bei Luftzutritt stets höher. Aber es wäre unbegründet, diese höheren Zahlen einer Begünstigung des Gährungsvorgangs durch den Sauerstoff zuzuschreiben, sondern wir möchten gleich hier bemerken, dass dies ausschliesslich als Folge der Zellvermehrung bei Luftzutritt betrachtet werden muss. Denn die Vermehrung der Hefezellen resp. des Hefegewichts in reinen Zuckerlösungen, steigt bei Luftzutritt je nach der Dauer der Versuche nach unseren Beobachtungen bis zu 30% des ursprünglichen Gewichtes an, während bei Wasserstoffdurchleitung keine oder nur geringe Vermehrung bei den vorliegenden Versuchsbedingungen festzustellen war. Dasselbe Resultat ergibt sich sehr eclatant im Versuch XIII, in der noch später zu besprechenden sog. Normalgährung, wobei neben dem Hefegewicht auch noch eine Zählung von Hefezellen mittelst Hämatometer vorgenommen wurde.

Obwohl durch diese Ergebnisse die Thatsache, dass Chudiakow einem Irrthum zum Opfer gefallen ist, für uns bereits feststand, schien es zur Beseitigung aller Zweifel doch geboten, noch weitere analoge Versuche anzustellen. Es wurden deshalb

die Versuche IV und V mit Hefestamm Nr. 7, die Versuche VI und VII mit Hefestamm Nr. 24 und die Versuche VIII und IX mit Hefestamm No. 25 (Tabelle II) ausgeführt. Um über den Gesammtverlauf der Gährung einen Ueberblick zu erhalten, wurden diese Versuche bis auf die Zeitdauer von 78, 70, 110, 135, 113 und 94 Stunden ausgedehnt, so dass fast sämmtlicher Zucker zur Vergährung gelangte. Das Resultat aller dieser Versuche blieb aber stets das nämlich, die $CO_2$-Mengen zeigten sich gleich oder etwas höher bei Luftzutritt, und nur gegen Ende der Gährung trat naturgemäss eine Verminderung derselben ein, wenn der Zucker bereits grösstentheils verschwunden war und statt dessen die Zersetzungsproducte sich anhäuften. Die etwas höheren $CO_2$-Mengen bei Luftdurchleitung mussten, wie erwähnt, auf Vermehrung der Hefezellen bezogen werden. Als Beispiel sei ein Versuch angeführt.

**Versuch V.**

| Wasserstoff- | | Luftdurchleitung | |
|---|---|---|---|
| In der 1. Stunde | 32,0 mg $CO_2$ | 32,0 mg $CO_2$ | 1. Tag |
| » » 7. » | 47,5 » » | 42,0 » » | |
| » » 24. » | 32,0 » » | 31,5 » » | 2. » |
| » » 30. » | 27,0 » » | 30,0 » » | |
| » » 49. » | 25,5 » » | 27,0 » » | 3. » |
| » » 54. » | 32,0 » » | 38,0 » » | |
| Nach 70 Stunden | 2,3115 g » | 2,5935 g » | |

Um weitere Beweise der Unschädlichkeit von Luft bei der Gährung zu erbringen, wurde bei Versuch X die Gährung bis zu 140 Stunden ausgedehnt, wobei in Gährung B (Luft) die $CO_2$-Mengen auf Null herabgingen, während Gährung A noch nicht zu Ende gekommen war. In diesem Zeitpunkt erfolgte nun ein neuer Zuckerzusatz und zwar 25 cm einer 10proc. Lösung, unter besonderen Vorsichtsmaassregeln. Hier, wo bereits eine grössere Anhäufung der Zersetzungsproducte vorhanden war, möglicherweise auch andere ungünstige Momente bei Gährung B sich geltend machen konnten, musste es sich deutlich zeigen, ob der Sauerstoff überhaupt eine Schädigung bedingen kann oder nicht. Aber auch hier zeigten sich vom Moment des Zuckerzusatzes bis zur 21. Stunde bei Luftzutritt stets höhere $CO_2$-Zahlen.

Um den Einfluss der beiden Gase auf die Hefezellen näher zu charakterisiren, wurden noch folgende zwei Versuche angestellt. Es wurde nach 9 Stunden in Versuch XI und nach 23 Stunden in Versuch XII (Tabelle III) eine Umschaltung ausgeführt, indem dort, wo zuerst H durchgeleitet wurde, jetzt Luft, und umgekehrt, wo zuerst Luft die Gährflüssigkeit passirt hatte, nunmehr H durchgetrieben wurde. Die verschiedene Zeit der Umschaltung in beiden Versuchen wurde absichtlich gewählt.

Es zeigte sich, dass im Versuch XII, wobei nach 23 Stunden die Umschaltung ausgeführt wurde, die Gährung B genau so verlief, als wenn kein Wasserstoff durchgeleitet worden wäre; bei Gährung A scheint der Sauerstoff noch nachträglich günstig auf die Vermehrung eingewirkt zu haben.

Bei Versuch XI, wobei nach 9 Stunden die Umschaltung erfolgte, ist bei Gährung A ganz deutlich die Vermehrung, und als Folge hievon die höheren $CO_2$-Zahlen, zu erkennen. Bei Gährung B dürfte die O-Zufuhr zu frühe unterbrochen worden sein; deshalb hier keine Vermehrung und keine höheren $CO_2$-Zahlen.

Nicht unwichtig erschien es, einen Versuch mit ganz reinen Materialien anzustellen. Hiezu wurde nach Soxhlet's Angabe Rohrzucker aus Methylalkohol umkrystallisirt und ferner möglichst von organischer Substanz freies Wasser hergestellt, so dass zum Versuch nur von organischen Substanzen befreites Wasser, chemisch reiner Zucker und eine Reinkultur von Hefe in von organischen Substanzen befreiten Gefässen zur Anwendung gelangten (Versuch XIII).

Es ergab sich, dass in den ersten 18 Stunden die Gährungen A und B ganz gleichmässig verliefen; nach dieser Zeit sind die Zahlen in Folge Hefenvermehrung immer bei Luftzutritt höher als ohne denselben. Die Hefenvermehrung wurde ausser durch die Erhöhung des Hefegewichtes auch durch Zählung im Hämatometer nachgewiesen. Auch mit reinem Sauerstoff wurde ein Versuch — Nr. XIV unternommen. Der Gasometer wurde statt mit Luft mit reinem Sauerstoff gefüllt, und es wurden pro Stunde 2,5 l O durch das Gährgefäss geleitet.

Das Ergebnis war, wie vorauszusehen, das nämliche: keine Schädigung durch den Sauerstoff. Die Zahlen sind:

**Versuch XIV.**

| | Wasserstoff- | Sauerstoffdurchleitung |
|---|---|---|
| In der 1. Stunde | 38,0 mg $CO_2$ | 47,0 mg $CO_2$ |
| » » 3. » | 34,0 » » | 28,0 » » |
| » » 8. » | 8,5 » » | 10,0 » » |

Endlich wurden ausser diesen Versuchen mit reinen Zuckerlösungen auch einige solche mit verschiedenen Nährlösungen angestellt. Chudiakow hatte zwar sein irriges Resultat vom störenden Einfluss des Sauerstoffs auf die Gährung zunächst nur bei Versuchen mit reiner Zuckerlösung erhalten, während in guter Nährlösung z. B. Bierwürze, auch bei ihm keine Abnahme, sondern starke Zunahme der Gährleistung und beträchtliches Anwachsen der $CO_2$-Zahlen eintrat. Ausser diesen Versuchen mit reiner Zuckerlösung und solchen mit Bierwürze hatte aber Chudiakow ausserdem auch Versuche mit künstlich zusammengesetzten Nährlösungen angestellt, bei denen sich vielfach ein schädigender Einfluss des Sauerstoffs, wie in blosser Zuckerlösung herausstellte. Letzteres ist der Grund, weshalb wir Veranlassung nahmen, ebenfalls einige solche Versuche anzustellen.

Es kamen hiebei 5 verschiedene Nährlösungen zur Anwendung (Versuche XV, XVI, XVII, XVIII, XIX) und zwar die nämlichen, welche unter anderen auch Chudiakow verwendet hatte, dessen Zahlen deshalb zum Vergleiche in unseren Tabellen mit aufgeführt werden konnten.

Unsere Versuche mit diesen Nährlösungen bestätigen lediglich die Thatsache, dass unter dem Einfluss einer vollständigen Ernährung jede gute Hefe sich vermehrt und in Folge dessen auch kräftiger gährt, und zwar Beides in noch höherem Maasse, wenn ihr Sauerstoff zur Verfügung steht. Chudiakow erhielt demgegenüber selbst bei diesen Nährlösungen keine Zunahme der Gährleistung, wenn in denselben der N-Bedarf durch Ammoniksalze gedeckt war. Nur dann, wenn Pepton als N-Quelle zur Anwendung kam (Chudiakow's Versuch 43), trat auch bei ihm während

des Versuchs Steigerung der Gährleistung, also vermuthlich Vermehrung der Hefe ein. In den Nährlösungen von Naegeli, Ad. Mayer, Laurent u. s. w. dagegen zeigte sich bei Chudiakow auch im Wasserstoff kein Ansteigen der Gährthätigkeit, woraus geschlossen werden muss, dass Chudiakow zu seinen Versuchen Hefen verwendet hat, denen die normale Wachsthums- und Vermehrungsfähigkeit in den genannten Nährlösungen abging.

---

Nach allen diesen, unter einander vollkommen übereinstimmenden Ergebnissen war nicht mehr zu bezweifeln, dass Chudiakow's Resultate auf einem Versuchsfehler beruhen, und dass dem Sauerstoff, auch unter den von Chudiakow gewählten besonderen Bedingungen weder ein schädigender Einfluss auf die Hefezellen noch auf den Gährungsvorgang an sich zuerkannt werden kann. Es erübrigte jetzt lediglich, den Grund der Irrthümer Chudiakow's wenn möglich ausfindig zu machen, wozu die obige Constatirung bereits einen Anhaltspunkt bot. Die volle Erledigung dieser Aufgabe gestaltete sich indes nicht leicht und weit schwieriger und zeitraubender, als es die einfache Constatirung des richtigen Sachverhalts gewesen war.

Da Chudiakow nicht mit Reinkulturen gearbeitet hatte, so war zunächst die Möglichkeit in's Auge zu fassen, ob nicht beigemengte aërobische Spaltpilze, z. B. Michsäurebacterien, in seinen Kulturen bei Luftdurchleitung die Oberhand über die Hefezellen gewonnen und diese dadurch schliesslich an ihrer Gährthätigkeit verhindert haben konnten. Eine Reihe dahin zielender Versuche mit Beimengungen verschiedenartiger aërobischer Spaltpilze (Milchsäure-, Essigbakterien, Proteus-, Sarcine-Arten) zur Hefe hatte jedoch nicht den gewünschten Erfolg. Immer gewannen in kurzer Zeit die Hefezellen die Oberhand, was ja schliesslich in einer reinen Zuckerlösung auch nicht schwer zu begreifen ist.

Wir dachten nun, ob nicht die Anwesenheit wilder Hefearten in Chudiakow's Versuchen die Ursache der Störungen

gewesen sein könne? Aus hefetrübem Bier wurden verschiedene Sorten isolirt und zu Versuchen mit gemischter Aussaat verwendet; ausserdem wurde auch der Kahmpilz (Mycoderma cerev.) in Anbetracht seiner aërobischen Befähigung in den Bereich der Untersuchung gezogen. Aber auch hier ergab sich bei Luftdurchleitung keine Ueberwucherung der Bierhefe und keine Hemmung der Gährthätigkeit, wie die Versuche XX—XXV (Tabelle IV) erkennen lassen.

Nach dem Misserfolg dieser Bemühungen sahen wir uns genöthigt, unseren Verdacht auf die Versuchsanordnung von Chudiakow zu lenken. Wie schon Eingangs erwähnt, hat Chudiakow in Bezug auf die Durchleitung der Gase nicht so genau verfahren, wie es eigentlich erforderlich gewesen wäre. Es lag nahe, einen Versuch in der Weise anzustellen, dass mehr Gas durch die Gährflüssigkeit hindurch geleitet wurde, als dies gewöhnlich der Fall war, und als es nach den Angaben Chudiakow's eigentlich hätte sein sollen. Anstatt der gewöhnlichen 2,5 l Luft wurden jetzt 4 bis 5 l hindurchgetrieben, während die übrigen Versuchsbedingungen ungeändert blieben.

Der Erfolg dieser scheinbar geringfügigen Aenderung in der Versuchsanordnung war ein höchst überraschender: Wir erhielten in Versuch XXVI zum erstenmale ein Ergebniss, welches mit den Resultaten von Chudiakow, wenigstens für Luftdurchleitung, übereinstimmte.

**Versuch XXVI.**

| | Wasserstoff- | Luftdurchleitung |
|---|---|---|
| In der 1. Stunde | 50,0 mg $CO_2$ | 67,0 mg $CO_2$ |
| » » 2. » | 70,0 » » | 100,0 » » |
| » » 3. » | 31,0 » » | 25,0 » » |
| » » 8. » | 2,5 » » | 11,0 » » |
| » » 9. » | 0,0 » » | 8,0 » » |

Dasselbe Resultat ergab Versuch XXVII. Noch deutlicher trat die Hemmung der Gährwirkung hervor in Versuch XXVIII (Tabelle V), in welchem nur die Hälfte des Hefengewichts gegenüber Versuch XXVII zur Anwendung kam, aber dieselbe Menge

Gas (4 l) durchgeleitet wurde.[1]) Hier ist nach 2 Stunden bereits bei Luftdurchleitung die $CO_2$-Production bis auf Null reducirt.

Das Auffallendste aber bei diesen Resultaten, wodurch dieselben zugleich von den Ergebnissen Chudiakow's sich wesentlich unterscheiden, ist der Umstand, dass auch die gesteigerte Wasserstoff-Durchleitung eine Hemmung der Gährthätigkeit mit sich brachte. Dadurch war bewiesen, dass die mit der stärkeren Gasdurchleitung verbundene stärkere Bewegung als das entscheidende Moment bei der Schädigung der Gährthätigkeit anzusehen ist. War dies richtig, so musste ein Unterschied auch schon bei einem Vergleich einer Gährung ohne Bewegung — also bei völliger Ruhe — und mit Bewegung, selbst wenn dieselbe von schwächerer Art war, nachzuweisen sein. Ein solcher Vergleich ist in den Versuchen XXIX, XXX und XXXI (Tabelle VI) durchgeführt, und obwohl in den Gährflüssigkeiten mit Bewegung nur je 2—2½ l per Stunde Wasserstoff resp. Luft durchgeleitet wurden, so ist doch überall ein zwar geringer, aber deutlicher schädigender Einfluss der Bewegung zu constatiren. Diese Versuche wurden übrigens in der Weise beendet, dass am Schlusse das Wasserbad, welches die Gährgefässe umgab, auf 50—60° C. erwärmt und dann Luft durch die Gährgefässe geleitet wurde.

Konnte es nach diesen Ergebnissen nicht mehr zweifelhaft sein, dass der mechanische Effect stärkerer Erschütterung schädigend auf die Gährthätigkeit der Hefe einzuwirken vermöge, so wurde dieser Schluss noch weiter durch Versuche bestätigt, bei denen überhaupt kein Gas durch die Gährgefässe geleitet, sondern die Erschütterung der Gährgefässe durch einen Schüttelapparat bewirkt wurde. Solches geschah in den Versuchen XXXII und XXXIII (Tabelle VII). Wir bedienten uns eines Gasmotors, der in der Minute 200—250 Touren machte. Nach 2½—3½ Stunden langem Schütteln gelangte die Gährflüssigkeit in die Gährgefässe zurück, und wurde nun wieder Luft resp.

1) Die Natronkalkröhren waren selbstverständlich auf ihre Absorptionsfähigkeit beim Durchleiten solcher Gasmengen geprüft worden.

Wasserstoff (per Stunde $2^1/_2$ l) durchgeleitet. In Versuch XXXII, bei dem eine geringe Hefequantität zur Aussaat kam, sank die $CO_2$-Production in Folge dieser Behandlung der Hefe alsbald nahezu auf Null herab. In Versuch XXXIII dagegen, in welchem eine grössere Hefenmenge verwendet wurde, war der schädigende Effect des Schüttelns weitaus geringer, obschon im Vergleich zur Controlprobe des Versuches XXXII deutlich wahrnehmbar.

Das letzterwähnte Versuchsresultat deutete schon darauf hin, was in der Folge durch weitere Versuche sich bestätigte, dass die hier angewendeten Bewegungsintensitäten im Allgemeinen keineswegs eine völlige Vernichtung der Lebensfähigkeit der Hefezellen, sondern nur eine vorübergehende mehr oder weniger anhaltende Hemmung ihrer Gährleistung bewirken können. Und zwar scheint dieser Erfolg durch mangelhafte Ernährungsbedingungen, wie sie in reiner Zuckerlösung bei kleiner Hefenaussaat gegeben sind, wesentlich verstärkt zu werden. So fanden wir in weiteren Versuchen, bei welchen Anfangs 2,5 l Gas, dann bedeutend grössere Mengen (per Stunde 10 l) und schliesslich wieder 2,5 l durchgeleitet wurden, nicht nur einen deutlichen Einfluss des starken Schüttelns, sondern auch der Hefemengen. Je geringer diese waren und je früher mit stärkerer Luftdurchleitung begonnen wurde, um so schneller und ausgiebiger erfolgte das Zurückgehen der $CO_2$-Production.

Und ferner liess sich in weiteren Versuchen, die einerseits mit 10 proc. Rohrzuckerlösung, anderseits mit Bierwürze angestellt wurden, der maassgebende Einfluss der angewendeten Ernährungsbedingungen sehr deutlich constatiren (Versuche XXXIV—XXXVII (Tabelle VIII). Es ergab sich, dass die gleiche mechanische Misshandlung der Hefezellen — gleichviel, ob dieselbe durch Schütteln in einem Apparat oder durch starke Luftdurchleitung durch die Gährflüssigkeit erzielt war — auf die in blosser Zuckerlösung befindlichen Hefezellen schädigend einwirkte, auf die in Bierwürze befindlichen aber ohne jede nachweisbare nachtheilige Wirkung blieb. Dieses Ergebniss

erinnert ganz auffallend an die Resultate Chudiakow's, wonach nur in Zuckerlösung, überhaupt nur unter ungünstigen Ernährungsbedingungen die Luftdurchleitung den Gährungsvorgang hemmte und unterdrückte, während unter günstigen Ernährungsbedingungen, speciell in Bierwürze, nichts von einem solchen Erfolge zu verspüren gewesen war. Zugleich ist damit aber die Bedingung W. Pfeffer's erfüllt, unter welcher derselbe den Einspruch des Einen von uns (Rapp) gegen Chudiakow als begründet erklärte, wenn nämlich gezeigt werden könnte, dass »die Empfindlichkeit der Hefe gegen Erschütterungen mit der Zusammensetzung der Culturflüssigkeit sich ändert.« [1])

Wir müssen nach alledem unsere Ueberzeugung dahin aussprechen, dass hier der Hauptgrund der Täuschungen gefunden ist, denen Chudiakow zum Opfer fiel. Nicht der Sauerstoff war es, und nicht die übrigen Bedingungen, die Zuckerlösung und die kleinen Hefenaussaaten an und für sich, welche die Hemmung der Gährthätigkeit in seinen Versuchen bewirkten, sondern der Grund lag in der nachtheiligen Einwirkung der Schüttelbewegung bei seinen Versuchen mit Luftdurchleitung. Es muss angenommen werden, dass Chudiakow, der sich bei seinen Versuchen der weniger genauen Aspirationsmethode und nicht, wie wir, der genaueren Pressions-Methode bediente, stets unabsichtlich bei Luftdurchleitung etwas mehr Gas zum Durchstreichen brachte, als in den Versuchen mit Durchleitung von Wasserstoff. Da die von ihm durchgeleiteten Gasmengen von 2,5—3 l per Stunde bereits nahe der Grenze lagen, wo die mechanische Schädigung der Hefezellen beginnt, so konnte eine geringe Ueberschreitung der anzuwendenden Luftmenge bereits Unterschiede hervorrufen.

Letzteres war umsomehr naheliegend, als Chudiakow offenbar keine genügend lebenskräftige Hefe verwendet hat. Dies ist ein zweiter, ungemein wichtiger Punkt. Nach dem, was weiter oben darüber mitgetheilt wurde, müssen wir schliessen, dass Chudiakow bei seinen Versuchen eine Hefe von

1) a. a. O. S. 566.

ungenügender Wachsthums- und Vermehrungsfähigkeit benützt hat, die vielleicht als Specialtypus gelten konnte, aber nicht geeignet war, um aus ihrem Verhalten allgemeine Schlussfolgerungen abzuleiten.

Welche von beiden Fehlerquellen bei Chudiakow's Versuchen im einzelnen überwog, können wir nicht unterscheiden. Meist aber dürften beide gemeinsam gewirkt haben, woraus sich denn die auffallenden Resultate ohne besondere Schwierigkeit erklären lassen.

## V. Uebersicht der bisherigen Resultate.

Das Vorstehende lässt sich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Durchleitung von Luft durch gährende Zuckerlösung bei kleiner Hefenaussaat verursacht keine Hemmung der Gährthätigkeit, solange die mechanische Bewegung dabei ein gewisses Maass nicht überschreitet. Die entgegenstehenden Angaben Chudiakow's beruhen auf Versuchsfehlern.

2. Die Durchleitung von Luft durch gährende Zuckerlösung gibt im Vergleich zur Durchleitung von Wasserstoff nur insoferne ein anderes Resultat, als bei Luftzutritt stets eine geringe Vermehrung der Hefe stattfindet. Infolge dessen sind auch bei Luftdurchleitung die producirten $CO_2$-Mengen stets etwas grösser als bei Durchleitung von Wasserstoff.

3. Auf den Gährungsvorgang selbst — also vermuthlich auf die Zymasebildung — äusserte der Sauerstoff unter den angewendeten Versuchsbedingungen eben so wenig einen Einfluss, wie Wasserstoff oder Stickstoff. Und zwar war dies der Fall bei zwei typischen untergährigen Hefen (Stamm 7 und 24) und einer obergährigen Hefe (Stamm Nr. 25).

4. Mechanische Erschütterung der Gährflüssigkeit, wenn dieselbe einen gewissen Grad überschreitet — gleichviel ob durch starke Gasdurchleitung oder einen Schüttelapparat — ist für die Gährthätigkeit der Hefezellen von schädlichem Einfluss, was besonders unter mangelhaften Ernährungsbedingungen sehr deutlich hervortritt.[1])

1) Als ein gelegentliches weiteres Resultat der obigen Untersuchungen

## VI. Neue Versuche mit Oberflächencultur der Hefepilze.

Die vorstehend mitgetheilten Untersuchungen hatten, ausser der Widerlegung Chudiakow's wenigstens das Ergebniss zu Tage gefördert, dass auch unter solchen Bedingungen, welche im Allgemeinen für Lebens- und Gährthätigkeit der Hefezellen nicht als günstig erachtet werden können, welche die Vermehrung der Hefe möglichst beschränken, wie es der Aufenthalt in reiner Zuckerlösung bei kleiner Hefenaussaat thatsächlich thut, dass auch dann die Zufuhr reichlicher Luft-, resp. Sauerstoffmengen nicht im Stande ist, im Vergleich mit einem indifferenten Gas, wie Wasserstoff, die Gährthätigkeit der Hefe irgendwie zu beeinträchtigen.

Die Grundvorstellung Pasteur's muss also jedenfalls — das beweist auch dieses neue Ergebniss — wesentlich eingeschränkt werden. Wenn auch die Annahme im Princip ganz richtig sein mag, dass wir es beim Hefepilz mit einem ursprünglich aërobischen Organismus zu thun haben, der aber mit der Zeit die Function der Gährungserregung als vicariirenden Ersatz für den Respirationsprocess bei sich entwickelt hat, so müssen wir doch jetzt zugeben, dass er es in dem Ausüben und Festhalten dieser Function schon auf eine recht anerkennenswerthe Höhe gebracht hat. Oder, um mehr im Sinne Pasteur's zu sprechen, wir müssen constatiren, dass jedenfalls schon ein äusserst geringgradiger Mangel an Sauerstoff, wie ihn das blosse Untergetauchtsein in einer (sauerstoff-gesättigten) Flüssigkeit — gegenüber dem directen Wachsthum an der freien Luft — immerhin mit sich bringen mag, dass diese Beschränkung des Sauerstoffs schon genügt, um die Gährthätigkeit beim Hefepilz auszulösen.

Man könnte vielleicht bezweifeln, ob in den vorangehend mitgetheilten Untersuchungen bei den Gährungen mit Luftdurch-

---

sei erwähnt, dass in den Versuchen mit Luftdurchleitung stets die vorgelegte Schwefelsäure eine viel raschere und stärkere Dunkelfärbung zeigte, als bei Wasserstoffdurchleitung. Bei genauerer Untersuchung stellte sich heraus, dass die Erscheinung nur durch stärkere Esterbildung bei Luftzutritt hervorgerufen wird.

leitung die erhaltenen $CO_2$-Mengen immer auf Gährung zu beziehen seien, ob nicht auch ein Theil der $CO_2$ aus einfacher Oxydation des Zuckers resultire. Die auf Tabelle IX mitgetheilten Alkoholbestimmungen, sowie die Bestimmungen der vergorenen Zuckermengen im Verhältniss zur gebildeten $CO_2$-Menge zeigen jedoch, dass dies nicht der Fall war.

Nachdem nun soweit Einblick gewonnen war, erschien es offenbar als das Wichtigste für Klarstellung der biologischen Seite des Gährungsproblems, den Zustand zu ermitteln, wo der Hefepilz noch als aërobischer Organismus, d. h. oxydirend und respirirend functionirt, und gleichzeitig denjenigen Punkt, wo er im Begriffe steht, in seinen gährthätigen Zustand, der ihn eventuell zur Anaërobiose befähigt, überzugehen.

Gibt es überhaupt bei derjenigen Varietät des ächten Bierhefepilzes, welche in unseren Brauereien praktisch zur Anwendung kommt, einen rein aërobischen Zustand, bei welchem trotz Vorhandensein gährfähigen Zuckers keine Gährthätigkeit, sondern ausschliesslich Oxydation durch die Zelle geübt wird? Diese Frage ist offenbar entscheidend für die ganze biologische Erfassung des Gährungsproblems.

Die Methodik solcher Versuche ist klar: es kann sich nur um Oberflächenkulturen von Hefe auf einem festweichen Substrat, am besten auf zuckerhaltiger Nährgelatine handeln, weil hier der ungehemmteste Zutritt von Sauerstoff und gleichzeitig die Aufnahme von Zucker zum Zweck der Gährung oder Oxydation in die Zellen erfolgen kann.

Bevor auf die Versuchsanordnung näher eingegangen wird, sei noch historisch bemerkt, dass die Möglichkeit der Gährung bei vollstem Sauerstoffzutritt durch frühere Autoren bereits nachgewiesen ist. Hieher gehören namentlich Ad. Mayer's Versuche mit dem Nöbel'schen Schlämmtrichter bei fortwährender Luftdurchleitung, ferner ähnliche Versuche von E. Ch. Hansen, endlich neuere Versuche von Iwanowsky[1]) mit

1) Arbeiten des bot. Laboratoriums der Akad. St. Petersburg 1893, No. 4. S. Koch's Jahrssber. 1894, S. 116.

Züchtung von Hefe auf Thonplatten, welche bis zur Hälfte ihrer Dicke in Nährlösungen tauchten, und auf denen die Hefe trotz dieser reichlichen Lüftung Alkohol und $CO_2$ aus Zucker bildete. Die Möglichkeit einer Gährung bei vollstem Luftzutritt ist also längst erwiesen. Allein es handelt sich darum, durch genaue messende Versuche festzustellen, inwieweit bei ungehemmtem Luftzutritt die Gährleistung der Hefezellen durch deren oxydirende Function ersetzt und zurückgedrängt werden kann? Dass überhaupt eine Aenderung der Zersetzung durch Hefepilze im Sinne stärkerer Oxydation, geringerer Gährung sattfinden könne, hatten neuere Untersuchungen von Giltay und Aberson[1]) erwiesen, in denen bei starker Lüftung nur etwa $^3/_4$ des vorhandenen Zuckers nach dem Verhältnis der alkoholischen Gährung sich gespalten hatte, während bei Ausschluss von Luft gewöhnlich mehr als 90% des Zuckers auf diese Weise sich zersetzten. Wir beabsichtigten, die gleiche Frage mit Oberflächenkulturen, also unter den eigentlichen Bedingungen vollster Aërobiose zu untersuchen.

## Versuchsanordnung.

Die Versuche wurden gleichzeitig in zwei parallelen Reihen zu gegenseitiger Controlle durchgeführt:

Die eine Reihe — Schema A — mit möglichstem Luftzutritt, Oberflächencultur; die andere Reihe — Schema B — mit Luftbeschränkung.

1. Zu den Versuchen nach Schema A, Oberfächencultur, dienten grosse cylindrische Flaschen von 5 l Inhalt mit möglichst regelmässigen cylindrisch-parallelen Seitenwandungen. Dieselben wurden sterilisirt und mit sterilisirter Bierwürzegelatine (mit Zusatz von 10% Traubenzucker) in der Weise beschickt, dass die Gelatine als dünner Ueberzug die senkrechten Theile der Innenwandung der Flaschen überzog, (ähnlich wie bei den Esmarch'schen Rollkulturen). Diese Gelatine-Rollculturen grossen Stiles wurden dann mit je 12 ccm einer

1) Pringsheim, Jahrbücher f. wissensch. Botanik, 26, p. 543.

nicht zu starken Aufschwemmung von rein gezüchteter Hefe (Hefenstamm Nr. 24 einer typischen untergährigen Hefe) inficirt, indem man diese Aussaat durch Hin- und Herbewegen gleichmässig über die Innenwandung ausbreitete und den Rest von 2—4 ccm schliesslich abgoss. In den Hals der Flasche gelangte jetzt statt des Wattepfropfens ein ausgekochter, doppelt durchbohrter Gummistopfen, durch dessen Bohrungen eine längere und eine kürzere rechtwinklig gebogene Glasröhre hindurch geführt ward. Die Flaschen wurden dann im Thermostaten bei 24° C. aufgestellt, und es wurde Luft, die von $CO_2$ befreit und mit Wasser wieder gesättigt war, mittelst eines Gasometers beständig hindurchgeleitet, bis jedesmal nach fünf Tagen der Versuch unterbrochen wurde.

Die Absorption der Kohlensäure erfolgte bei den sich in ganz bedeutender Grösse entwickelnden Gasmengen in einem Erlenmeyer-Kolben, der je nachdem mit 50 bis 100 ccm 30proc. Kalilauge gefüllt wurde, und der an der Gasausströmungsöffnung eine Schwefelsäurevorlage hatte. Die Gase wurden natürlich vor der Absorption getrocknet, und es wurde ausser obiger Kalilauge noch eine mit Natronhydrat beschickte U-Röhre vorgelegt.

Behufs Alkoholbestimmung wurde eine zweite, genau so behandelte Flasche nach der $CO_2$-Absorption mit der ersten verbunden, und die austretenden Luftmengen wurden durch zwei Wasservorlagen geleitet, um die eventuell mitgeführten Alkoholmengen dort zurückzuhalten. In manchen Fällen wurde in ein und derselben Flasche $CO_2$ und Alkohol zugleich bestimmt und dann war diese Wasservorlage zwischen Culturflasche und Trockenvorlagen eingeschaltet. Nach dem Versuche wurden die vorsichtig verflüssigten Culturen in eine geräumige Retorte gebracht und der Alkohol mit Wasserdampf auf dem Sandbade überdestillirt. Das Destillat wurde neutralisirt und wieder destillirt und hernach aus dem spec. Gewichte nach der Tabelle nach Windisch der Alkoholgehalt in Gewichtsprocenten ermittelt. In einigen Fällen wurde der Alkohol mittelst Lösen von Pottasche ausgeschüttelt.

Hefegewichtsbestimmung: Die Flasche, die zur $CO_2$-Bestimmung diente, wurde meistens auch zur Hefegewichtsermittelung benützt. Die Hefe konnte durch Schütteln mit Wasser oder mit einer Federfahne von den Wandungen abgespült werden. Die noch anhaftenden Mengen wurden nach dem Verflüssigen der Gelatine durch Centrifugiren oder Absitzenlassen bei 35° C. innerhalb einiger Stunden gewonnen. In einigen Fällen wurde nach dem Abfiltriren und Nachwaschen der Hefe in der restirenden Flüssigkeit wie oben der Alkohol bestimmt. Das Verhältnis von Hefe zu vergorenem Zucker wurde berechnet aus dem Trockengewichte der Hefe und dem doppelten Gewichte des erhaltenen Alkohols (letzteres an Stelle der vergorenen Zuckermenge).

2. Mit den gleichen Hefepilzen und Gährmaterialien wurden, wie erwähnt, Controllversuche mit Luftbeschränkung durchgeführt (Schema B). Hiezu dienten Erlenmeyerkolben, in denen dieselbe Quantität Bierwürze (mit 10% Traubenzucker) mit derselben Menge Hefenaufschwemmung zur Vergährung kam, wie sie in den grossen Flaschen bei Schema A zum Inficiren gedient hatte (12 ccm abzüglich des abgegossenen Restes, also hier 8—10 ccm). Zu den Bestimmungen wählten wir bei diesen Vergleichsversuchen die bequeme Meissl'sche Methode. Im Gegensatz zu den obigen Versuchen mit Oberflächenwachsthum handelte es sich also hier in den wenig geräumigen Erlenmeyerkolben um Gährung bei beschränktem Luftzutritt. Nach Unterbrechung der Versuche nach Ablauf von je 5 Tagen wurde die $CO_2$ durch trockene Luft verdrängt und gewogen.

Ergebnisse. Wenn wir die Zahlenreihe der Versuche in Tabelle XII überblicken, so muss es zunächst überraschen, dass bei Oberflächenwachsthum (Schema A) auf Traubenzucker-Bierwürze-Gelatine so grosse Mengen Alkohol (10—15 g Alkohol bei 200—250 g Vergährungsmaterial) auftraten. Bisher wurde die Gährung fast immer in Flüssigkeiten studirt, wobei die Hefe ganz von Flüssigkeit umgeben ist; in unserem Falle liegen die Hefezellen resp. die entstehenden Colonien dem Vergährungsmaterial nur oberflächlich auf und trotzdem sehen wir eine fast

ebenso starke Zuckerspaltung wie bei Schema B, wo der Zucker doch in viel innigeren Contact mit der Hefezelle gelangte. Das bedarf zunächst einer gewissen Erläuterung, die umso nöthiger erscheint, als bisher Nährgelatine wohl noch nicht zu analytischen Arbeiten grösseren Stiles über die Gährung Verwendung gefunden hat.

Will man die Verhältnisse bei Hefeculturen auf Nährgelatine richtig auffassen, so müssen wir uns die Bierwürze-Gelatine als ein zartes Netzwerk vorstellen, dessen Zwischenräume mit Flüssigkeit ausgefüllt sind. In einem solchen Netzwerk muss sicherlich, wenn für genügende Feuchtigkeit gesorgt ist, wenn dasselbe nicht eintrocknen kann, eine gewisse Diffusion vor sich gehen, wie es folgender Versuch auch darthut. Bringt man in einer Petrischale Traubenzuckergelatine zum Erstarren, darüber eine zweite, ebenso dicke Schichte zuckerfreier Gelatine, und legt nun darauf ein befeuchtetes Filtrirpapier oder zunächst eine thierische Membran und darüber erst Filtrirpapier, so nimmt das Filtrirpapier in nicht zu langer Zeit eine nicht unbeträchtliche Menge von Traubenzucker auf, der leicht nachzuweisen ist. Es findet also unzweifelhaft eine Wanderung der Zuckermoleküle in der feuchten Gelatine statt, was auch Versuch c in Tabelle XIII eclatant ergibt. Hier wurde versucht, über eine Rollschichte von Traubenzucker-Bierwürze (200 g) nach dem völligen Erstarren und längerem Stehen an einem kühlen Platze, eine zweite Schicht zuckerfreier Hefenextract-Gelatine von 100 g darüber zu schichten. Nach dem Erkalten endlich wurde eine dritte Schicht von 100 g solcher zuckerfreier Gelatine über den bereits vorhandenen Schichten angebracht, so dass also nach der Aussaat von Hefenaufschwemmung auf der Oberfläche der letzten Schichte die Hefe sicherlich nicht mit der zuckerhaltigen Schichte in directen Contact kommen konnte. Trotzdem erhalten wir als Resultat 11,12 g Alkohol, demnach dieselbe Gährungsintensität wie bei directem Contacte der Hefe mit Traubenzuckergelatine (mit 11,0—12,0 g Alkohol). Es ist also ein ausgiebiges Diffundiren des Zuckers nach der Oberfläche in der Gelatine möglich und findet in der That statt.

Was nun die übrigen Verhältnisse bei den Oberflächenculturen (Schema A) betrifft, so war vorauszusehen, dass in Folge des schnellen und reichlichen Wachsthums der Hefe an der Oberfläche die Gährung hier viel schneller verlaufen werde als bei beschränktem Luftzutritt (Schema B). Diese Vermuthung wird in Tabelle XIV bestätigt. Hiezu wurden 5 ganz gleich grosse und gleich geformte Flaschen auf dieselbe Weise, wie oben angegeben, behandelt. Vom 2. Tage an wurde jeden Tag ein solche Flasche hinweggenommen, und sofort der Alkohol bestimmt. Die Curve bei Tabelle XIV gibt uns ein deutliches Bild der Gesammtgährleistung und zeigt, dass am 3. Tage bei Gährung A das Maximum fast erreicht wurde.

Bezüglich des Verhältnisses von Hefegewicht zum vergorenen Zucker finden wir unter sich gut übereinstimmende Zahlen (Tabelle XII), nämlich für Gährung nach Schema B (Bierwürze mit 10% Traubenzucker) das Verhältniss 1:35,6—48,4, dagegen bei Gährung nach Schema A (Bierwürze-Gelatine mit 10% Traubenzucker, Oberfläche) das Verhältniss 1:14,3—18,8. Es war von vornherein klar, dass an der Oberfläche unter so günstigen Bedingungen eine bedeutend grössere Menge Hefe sich bilden musste, als in derselben Quantität flüssiger Bierwürze. Dass aber nicht diese ganze Hefemenge bei der Gährung in Action treten kann, ist ebenso verständlich, wenn wir berücksichtigen, dass sich auf dem festen Substrat Colonien bilden, von denen nur die unteren Partien, vielleicht auch noch die mittleren sich an dem Gährungsprocess betheiligen können. Ferner ist stets zu berücksichtigen, dass die Bedingungen bei dieser Oberflächengährung für die Zuckerzufuhr zur Hefe trotz aller Diffusion bedeutend ungünstiger sich gestalten müssen, als in einer Flüssigkeit, wo freie Wanderung der Zuckermoleküle einerseits, Ortsveränderung der Hefezellen anderseits stattfindet. Wie leicht die Zahlen unter diesen Bedingungen verschoben werden, zeigt der Versuch in Tabelle XV, bei welchem verschiedene Quantitäten (50, 100, 200 g) von Vergährungsmaterial bei gleicher Versuchsanordnung zur Vergährung gelangten. Die Curve (Tabelle XV) zeigt deutlich die Tendenz der Annäherung

bei zunehmender Menge des Vergährungsmaterials oder mit anderen Worten: bei steigenden Mengen von Vergährungsmaterial würde schliesslich bei beiden Gährungsarten das nämliche Verhältniss von Hefengewicht zu vergorenem Zucker sich einstellen müssen; mit zunehmender Dicke der Gelatineschicht verliert die Oberflächencultur immer mehr von den sie auszeichnenden Eigenthümlichkeiten.

Wir kommen nun zur Hauptfrage, nach dem Verhältniss von $CO_2$ und Alkohol, von Gährung und Oxydation. Hinsichtlich dieser Frage sei besonders auf die Versuche VIII, IX und X (Tabelle XII) hingewiesen. Diese, wie übrigens auch die anderen Versuche ergaben stets bei den Oberflächenculturen (Gährung A) ein nicht unbeträchtliches Plus an $CO_2$ (4,067—6,70 g), das nicht aus dem stattgefundenen Gährungsprocess abgeleitet werden konnte, das folglich auf Respiration der Hefe bezogen werden musste. Während bei den Gährungen mit beschränktem Luftzutritt (Gährung B) die gefundenen Mengen von $CO_2$ und Alkohol annähernd dem von Pasteur ermittelten Verhältniss 48,3 $CO_2$:46,4 Alkohol sich fügen, ist dies bei den Oberflächenculturen (Schema A) durchaus nicht der Fall. Und wenn wir auf Grund der nachgewiesenen Alkoholmengen und des eben angeführten Verhältnisses die $CO_2$-Mengen berechnen, welche demgemäss durch alkoholische Gährung entstanden sein konnten, so ergibt sich eben das erwähnte Plus von $CO_2$, welches auf reine Oxydation, auf verbrannten Zucker bezogen werden muss. Leider war eine directe Bestimmung des Zuckers nicht ausführbar. Dieselbe wäre unter den gegebenen Bedingungen zu ungenau ausgefallen und musste desshalb unterlassen werden.

Statt dessen können wir aber einen indirecten Beweis führen, indem wir die Athmung ausschalten und die Gährung allein einsetzen lassen. Das geschieht, indem wir einfach H statt Luft durch den Gährkolben leiten, was in einem Versuch (Tab. XVI) ausgeführt ward. Wir nähern uns hier dem Verhältnisse von Alkohol zu $CO_2$, das theoretisch aus dem Zucker entstehen sollte. Natürlich wurde in diesem Falle, da eine Vermehrung

der Hefe nicht stattfinden konnte, schon im Voraus eine genügende Menge von Hefe-Emulsion aufgeschichtet. Der Versuch wurde in zwei grossen Erlenmeyer-Kolben mit ganz flachem Boden ausgeführt. Ein ähnliches Verhältniss treffen wir in Versuch B (Tabelle XIX), wobei die Hefeaufschwemmung, diesesmal entgegen dem gewöhnlichen Verfahren mit der Traubenzuckergelatine (200 g) bei 28° C gemischt, und mit dieser bereits inficirten Mischung dann eine Rollcultur angefertigt wurde. Nach dem Erstarren wurden als Ueberzug weitere 50 g Gelatine angebracht. Wir hatten es also hier mit einem Wachsthum zu thun, wobei der Zutritt von Luft mehr in den Hintergrund trat, aber nicht völlig gehemmt wurde. Das Ergebniss war, dass der Alkohol wieder das Uebergewicht erlangte, also jede Oxydation unterblieb.

Wir haben also unsere Absicht, der Hefe zu aërobischer Existenz zu verhelfen, dieselbe trotz Anwesenheit von Gährmaterial von der Gährthätigkeit abzulenken und ihre vitale Thätigkeit auf den Process der Respiration zu concentriren, zwar im Princip erreicht. Aber der erzielte Erfolg ist verhältnissmässig ein staunenswerth geringer. Trotz vollen Oberflächenwachsthums, und obwohl der zur Gährung gelangende Zucker erst durch Diffusion zu den Hefezellen herangeschafft werden musste, wurde durchschnittlich in unseren Versuchen kaum etwa $^1/_7$ des überhaupt verbrauchten Zuckers durch Oxydation zerstört, mehr als $^6/_7$ dagegen fielen dem Gährungsvorgang anheim. Die Culturhefe unserer Brauereien hält demnach mit ausserordentlicher Zähigkeit an ihrer Gährthätigkeit fest. Diese Anpassungsfunction ist so sehr im Organismus des heutigen Bierhefepilzes festgewurzelt, dass es nicht möglich ist, selbst unter absolut aërobischen Existenzbedingungen, unter denen scheinbar die Gährthätigkeit ganz überflüssig wird, diesen Pilz bei Zuckeranwesenheit ohne starke Gährthätigkeit zu cultiviren.

Zu ähnlichen Ergebnissen scheint in neuerer Zeit bereits Iwanowsky[1]) gelangt zu sein, doch dürften seine Versuche

1) a. a. O.

kaum einen so genauen Einblick in die Frage erlauben, wie die unserigen.

Wir dachten noch an die Möglichkeit, ob nicht vielleicht durch länger dauernde Züchtung unter aërobischen Existenzbedingungen die Bierhefe dennoch eine grössere Befähigung zur respiratorischen, eine geringere zur Gährungsfunction gewinnen könnte? Zu diesem Behufe wurde eine seit 18 Monaten im Laboratorium auf der Oberfläche von Bierwürze-Agar (schief erstarrt) mit monatlicher Uebertragung fortgezüchtete Bierhefe zur Anstellung eines Versuches mit Oberflächengährung benützt. Der Versuch ergab aber auch für diese Bierhefe in Bezug auf die Gährleistung und Respiration ganz die nämlichen Verhältnisse, wie die übrigen Versuche (Tabelle XVII).

---

In Pasteur's theoretischen Vorstellungen (s. oben) spielt auch die Ansicht eine Rolle, dass Hefe, die bei viel Luftzutritt rasch gewachsen ist und somit vorwiegend aus jugendlichen Zellen besteht, in Bezug auf Gährthätigkeit leistungsfähiger sein müsse als Hefe, die bei beschränktem Sauerstoffzutritt sich langsam vermehrt hat. Da wir nun in unseren Oberflächenculturen solche junge, rasch gewachsene Hefe reichlich zur Verfügung hatten und anderseits solche von den Gährungen nach Schema B, so wurden zwei diesbezügliche Versuche (Tabelle XVIII) angestellt. Es handelte sich darum, die Hefe aus diesen Versuchen, welche je 5 Tage gedauert hatten, möglichst aseptisch zu gewinnen. Zu diesem Zwecke wurde die Oberflächencultur verflüssigt, in einen sterilen Cylinder gegossen, mit sterilem Wasser verdünnt und, ebenso wie die aus Gährung nach Schema A gewonnene Hefe centrifugirt. Die oberen Flüssigkeiten wurden dann in beiden Fällen abgegossen, es wurde wieder mit sterilem Wasser gemischt und nochmals centrifugirt. Die so erhaltenen breiförmigen Hefensedimente wurden in sterile Gährgefässe vertheilt, so dass in jedem derselben das gleiche Hefegewicht (bezogen auf Trockensubstanz nach gutem Mischen der breiförmigen Hefe) sich befand. Nachdem eine sterile Traubenzuckerlösung zugesetzt war, wurde eine Gährkraftbestimmung nach Meissl

ausgeführt. Nach 48 Stunden ergaben sich aber bei beiden, in so verschiedener Weise herangezüchteten Hefen fast die gleichen Kohlensäurezahlen. (Tabelle XVIII.)

Es muss demnach, wie übrigens bereits von anderer Seite constatirt wurde, Pasteur's theoretische Vorstellung auch in dieser Beziehung beschränkt werden, und können wesentliche Unterschiede in Bezug auf die Gährkraft wohl nur bei wirklich älteren, schlecht ernährten Hefezellen oder überhaupt bei minder gährtüchtigen Rassen und Stämmen erwartet werden.

## VII. Gesammtresultate.

1. Pasteur's Ansicht über die Gährung ist in ihrer biologischen Grundlage insoferne berechtigt, als wir annehmen müssen, dass der Hefepilz die Gährwirkung als eine Anpassungsfunction, zum Ersatz der respiratorischen Lebensthätigkeit für gewisse Fälle, ursprünglich erworben hat.
2. Hiefür spricht, dass reichliche Sauerstoffzufuhr keinen erweislich günstigen Einfluss auf die Gährthätigkeit als solche ausübt, sondern nur auf die Vermehrung der Hefezellen.
3. Reichliche Sauerstoffzufuhr erweist sich, um es genau zu sagen, meistentheils indifferent für den Gährungsvorgang als solchen — also vermuthlich für die Zymasebildung —, ebenso wie Wasserstoff oder Stickstoff.
4. Anderseits ergibt sich aber, dass die ursprünglich phylogenetisch erworbene Anpassung der Gährthätigkeit beim heutigen Bierhefepilz zu einer ungemein festhaftenden Eigenthümlichkeit geworden ist. Selbst bei vollkommen aërobischen Existenzbedingungen, unter denen die Gährung für die Hefezelle werthlos und überflüssig zu sein scheint, wird mit grosser Zähigkeit an derselben festgehalten.
5. Nur bei reiner Oberflächencultur (auf erstarrter Zuckergelatine) findet eine stärkere respiratorische Zuckerzerlegung durch Hefezellen neben der quantitativ weit überwiegenden Gährthätigkeit (Verhältniss 1 : 6) statt.

6. Pasteur's biologische Vorstellungen über den Gährungsvorgang bedürfen nach alledem einer gewaltigen Einschränkung, da keineswegs, wie er wollte, der Sauerstoffmangel als auslösendes Moment für die Gährthätigkeit betrachtet werden kann, da vielmehr selbst bei Vollgenuss des Sauerstoffs die Gährthätigkeit gegenüber der respiratorischen wesentlich überwiegt.
7. Mechanische Erschütterung der Hefezellen, wenn dieselbe einen gewissen Grad übersteigt, ist für deren Gährthätigkeit von schädlichem Einfluss, was besonders unter mangelhaften Ernährungsbedingungen und bei weniger gährkräftigen Hefesorten sehr deutlich hervortritt. Die fehlerhaften Resultate von Chudiakow beruhen auf Verkennung dieser Thatsachen.
8. In Bezug auf die Natur des chemischen Anstosses, welcher die Spaltung des Zuckermoleküls beim Gährungsprocess bewirkt, erscheint Pasteur's Ansicht längst widerlegt. Es kann als wirksamer Stoff hier ausschliesslich die Zymase E. Buchner's in Betracht kommen.

**Tabelle I.** Versuche Ia, Ib, II, III.

**Gährungsversuche mit stündlichem Ersatz des vergohrenen Zuckers, mit 60 ccm Gährflüssigkeit** (nach Chudiakow).

| Temperatur 30° C. | Versuch Ia<br>Hefenstamm 7<br>Durchleitung p. Std. je 3 l | | Versuch Ib<br>Hefenstamm 24<br>Durchleitung p. Std. je 2,5 l | | Versuch II<br>Hefenstamm 24<br>Durchleitung p. Std. je 2,5 l | | Versuch III<br>Hefenstamm 24<br>Durchleitung p. Std. je 2,5 l | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ |
| In der 1. Stunde | *45,0*[1] | *46,0* | *47,5* | *49,5* | *47,0* | *52,0* | *49,0* | *50,0* |
| 2. » | *41,5* | *42,0* | *35,0* | *36,0* | *66,0* | *82,0* | | |
| 3. » | *33,0* | *38,0* | *34,5* | *35,5* | *57,0* | *80,0* | Mittel 45,8 | Mittel 48,4 |
| 4. » | | | | | | | | |
| 5. » | Mittel 19,0 | Mittel 19,3 | Mittel 18,0 | Mittel 27,6 | Mittel 32,8 | Mittel 69,5 | | |
| 6. » | | | | | | | *38,0* | *56,0* |
| 7. » | *11,5* | *14,0* | *10,0* | *16,5* | *26,0* | *46,0* | *34,0* | *53,5* |
| 8. » | *17,0* | *12,0* | *10,5* | *14,5* | *18,5* | *36,0* | | |
| 9. » | *10,5* | *10,6* | *11,0* | *11,5* | *20,5* | *36,0* | Mittel 18,3 | Mittel 17,4 |
| 10. » | 215,5 | 220,6 | | | | | | |
| 23. » | | | Mittel 10,8 | Mittel 10,8 | Mittel 16,8 | Mittel 33,3 | | |
| 24. » | | | | | | | *13,0* | *14,0* |
| 25. » | | | 365,0 | 407,0 | *13,5* | *24,0* | *14,0* | *14,0* |
| 26. » | | | | | *16,0* | *29,0* | | |
| 27. » | | | | | *11,0* | *27,0* | Mittel 13,0 | Mittel 13,1 |
| 28. » | | | | | | | | |
| 29. » | | | | | Mittel 12,5 | Mittel 25,8 | | |
| 30. » | | | | | | | *10,0* | *13,0* |
| 31. » | | | | | *16,0* | *26,5* | *14,0* | *11,5* |
| 32. » | | | | | *15,5* | *29,5* | *12,0* | *12,0* |
| 33. » | | | | | *13,0* | *29,5* | Mittel 13,0 | Mittel 14,0 |
| 34. » | | | | | | | | |
| 47. » | | | | | Mittel 13,7 | Mittel 26,3 | | |
| 50. » | | | | | | | | |
| | | | | | 940,9 | 1730,5 | 906,8 | 958,5 |
| | | | Hefegewicht: | | Hefegewicht: | | Hefegewicht: | |
| | | | Vor d. Vers. | 0,1535 | Vor d. Vers. | 0,2465 | Vor d. Vers. | 0,2465 |
| | | | Nach » » m. H | 0,1595 | Nach » » m. H | 0,2408 | Nach » » m. H | 0,2655 |
| | | | » » » » O | 0,1810 | » » » » O | 0,3290 | » » » » O | 0,3035 |

[1]) Die $CO_2$-Mengen (in Cursivschrift) sind mittelst der Mesamethode direct erhalten.

Tabelle II. Versuche IV—IX.

**Gährungsversuche mit den verschiedenen Hefestämmen.**

| Temperatur 25° C. | IV | V | VI | VII | VIII | IX |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hefenstamm 7 | | Hefenstamm 24 | | Hefenstamm 25 | |
| | Durchleitung von je 2,5 l pro Stde. | | | | | |
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ |
| In der 1. Stunde | 20,0 | 29,0 | 32,0 | 32,0 | | |
| 2. » | 27,0 | 32,5 | | | | |
| » | Mittel | Mittel | Mittel | Mittel | | |
| » | 30,3 | 32,3 | 15,3 | 41,5 | | |
| » | | | 48,0 | 35,0 | | |
| » | 57,5 | 39,5 | 47,5 | 37,5 | | |
| » | 37,0 | 40,0 | 47,5 | 42,0 | | |
| » | 28,0 | 30,0 | | | | |
| » | | | | | | |
| » | | | 36,8 | 63,0 | | |
| » | | | 33,5 | 37,0 | | |
| » | | | 24,0 | 39,0 | | |
| » | Mittel | Mittel | 28,5 | 68,0 | | |
| » | 24,5 | 32,0 | 29,5 | 50,0 | | |
| » | | | 31,5 | 36,5 | | |
| » | | | 33,0 | 45,0 | | |
| » | | | 29,0 | 45,0 | | |
| » | 23,0 | 24,5 | 34,0 | 37,5 | | |
| » | 19,0 | 27,0 | 40,0 | 44,0 | | |
| » | | | | | | |
| » | | | | | | |
| » | 20,7 | 30,5 | | | | |
| » | | | Mittel | Mittel | | |
| » | | | 22,6 | 40,8 | | |
| » | | | | | | |
| » | | | | | | |
| » | | | 30,0 | 42,5 | | |
| » | | | 26,0 | 35,0 | | |
| » | Mittel | Mittel | 33,0 | 43,0 | | |
| » | 17,7 | 27,4 | 21,5 | 42,0 | | |
| » | | | Mittel | Mittel | | |
| » | | | 29,2 | 39,0 | | |
| » | | | 29,0 | 39,0 | | |
| » | | | 28,0 | 35,0 | | |
| » | | | 28,5 | 35,5 | | |
| » | | | 27,0 | ? | | |
| » | | | | | | |
| » | | | | | | |
| » | | | |

Versuch X.

Nach beendigter Gährung erneuter Zusatz von Zucker.

| Temperatur 25° C. | Versuch X, Hefenstamm 24, Durchleitung von je $2^1/_2$ l per Stunde | |
|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft |
| | mg $CO_2$ | mg $CO_2$ |
| In der 1. Stunde | 110,0 | 101,0 |
| » » 2. » | *67,5* | ? |
| bis zur 17. » | Mittel 49,6 | Mittel 66,4 |
| in der 18. » | *52,0* | ? |
| » » 19. » | *36,5* | *45,0* |
| » » 20. » | *31,0* | ? |
| » » 21. » | *26,5* | *33,0* |
| bis zur 23. » | Mittel 40,2 | Mittel ? |
| in der 24. » | *34,0* | *70,0* |
| » » 25. » | *39,0* | *51,5* |
| » » 26. » | *36,0* | *41,0* |
| bis zur 41. » | Mittel 29,5 | Mittel 40,6 |
| in der 42. » | ***44,0***[1]) | *53,0* |
| » » 43. » | *23,0* | *38,0* |
| » » 44. » | *23,0* | *29,5* |
| » » 45. » | *23,0* | *29,0* |
| bis zur 47. » | Mittel 26,5 | Mittel 33,3 |
| in der 48. » | *27,0* | *61,0* |
| » » 49. » | *25,5* | *31,0* |
| » » 50. » | *21,0* | *26,0* |
| bis zur 65. » | Mittel 21,5 | Mittel 14,8 |
| in der 66. » | ***31,0***[1]) | ***37,0***[1]) |
| » » 67. » | *20,5* | *16,5* |
| » » 68. » | *15,0* | *17,0* |
| bis zur 72. » | Mittel 19,8 | Mittel 24,0 |
| in der 73. » | *16,0* | *17,7* |
| » » 74. » | *18,0* | *29,5* |
| » » 75. » | *17,0* | 13,0 ? |
| bis zur 90. » | Mittel 19,8 | Mittel 24,8 |
| in der 91. » | *16,0* | *15,5* |
| » » 92. » | *18,0* | *17,0* |
| bis zur 96. » | Mittel 18,7 | Mittel 14,7 |
| in der 97. » | ***42,5***[1]) | ***50,5***[1]) |
| » » 98. » | *17,0* | *21,5* |
| » » 99. » | *23,0* | *12,0* |
| bis zur 117. » | Mittel 19,0 | Mittel 15,0 |
| » » 138. » | » 10,5 | » 3,2 |
| in der 139. » | *15,0* | *4,5* |
| » » 140. » | *7,5* | *3,3* |

Jetzt erfolgte ein neuer Zusatz von je 25 ccm einer 10 proc. Zuckerlösung.

| | | |
|---|---|---|
| bis zur 3. Stunde | Mittel 17,7 | Mittel 20,9 |
| in der 4. » | 21,5 | ***32,2***[1]) |
| » » 5. » | *12,5* | *18,5* |
| » » 6. » | *12,0* | *24,0* |
| bis zur 21. » | Mittel 19,2 | Mittel 25,0 |

1) $CO_2$-Anhäufung aus den vorhergehenden Stunden. Siehe S. 15.

**Tabelle III.** Versuch XI und XII.

**Versuche mit abwechselnder Durchleitung von Wasserstoff und Luft.**

| Temperatur 30° C. | Versuch XI Hefenstamm 25 Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | | Versuch XII Hefenstamm 24 Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | |
|---|---|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| | *A* | *B* | *A* | *B* |
| In der 1. Stunde | *109,0* | *127,0* | | |
| » » 2. » | *99,0* | *103,0* | Mittel 86,3 | Mittel 90,0 |
| » » 3. » | *103,0* | *118,0* | | |
| » » 4. » | Mittel 78,0 | Mittel 73,0 | *122,0* | *105,0* |
| » » 5. » | | | *97,0* | *111,0* |
| » » 6. » | *76,5* | *134,0?* | *62,5* | *87,0* |
| » » 7. » | *57,0* | *75,0* | | |
| » » 8. » | *46,0* | *62,0* | | |
| » » 9. » | *49,0* | *57,0* | Mittel 64,6 | Mittel 80,5 |
| | Umschaltung Durchleitung von | | | |
| » » 20. » | Luft | Wasserstoff | | |
| » » 21. » | | | *65,5* | *59,0* |
| » » 22. » | | | *32,5* | *52,5* |
| » » 23. » | Mittel 48,8 | Mittel 42,7 | *49,0* | *52,0* |
| » » 24. » | | | Umschaltung Durchleitung von | |
| | | | Luft | Wasserstoff |
| » » 25. » | *35,0* | *51,0* | Mittel 25,2 | Mittel 37,0 |
| » » 26. » | *37,0* | *50,5* | | |
| » » 27. » | *37,5* | *59,0* | *40,0* | *67,0* |
| » » 28. » | | | *34,0* | *50,0* |
| » » 29. » | Mittel 44,0 | Mittel 30,8 | *27,0* | *51,0* |
| » » 30. » | | | *33,0* | *54,0* |
| » » 31. » | *60,0?* | *31,5* | *32,0* | *60,0* |
| » » 32. » | *47,0* | *27,0* | | |
| » » 33. » | *48,0* | *27,0* | Mittel 32,8 | Mittel 52,2 |
| bis zur 43. » | 1,8290 g | 1,8005 g | | |
| in der 44. » | | | *46,0*[1]) | *67,5*[1]) |
| » » 45. » | | | *25,5* | *43,0* |
| » » 46. » | Hefegewicht: | | *28,0* | *41,5* |
| bis zur 66. » | Vor d. Vers. = 0,4990 | | Mittel 28,4 | Mittel 31,8 |
| in der 67. » | Nach » » m. H = 0,6080 | | *21,0* | *4,0* |
| » » 68. » | » » » » O = 0,5900 | | *21,5* | 0 |
| » » 69. » | | | *21,0* | |
| » » 70. » | | | *23,0* | |
| bis zur 74. » | | | Mittel 22,8 | |
| in der 75. » | | | *17,5* | |
| » » 76. » | | | *22,0* | |
| bis zur 89. » | | | Mittel 22,4 | |
| » » 90. » | | | *20,0* | |
| » » 91. » | | | *21,0* | |
| » » 92. » | | | *19,0* | |
| bis zur 96. » | | | Mittel 18,0 | |
| in der 97. » | | | *25,0* | |
| » » 98. » | | | *21,0* | |
| bis zur 115. » | | | Mittel 12,8 | |
| | | | 3,9195 g | 3,8005 g |
| | Sammelabsorpt.-Rohr | | 90 | 260 |
| | | | 3,9285 g | 3,8265 g |

1) $CO_2$-Anhäufung aus den vorhergehenden Stunden. Siehe S. 15.

Versuch XIII.

**Gährungsversuch mit chemisch reinem Rohrzucker und von organischer Substanz freiem Wasser.**

| Temperatur 30° C. | Versuch XIII | |
|---|---|---|
| | Hefenstamm 7 | |
| | Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | |
| | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | *47,0* | *41,0* |
| » » 2. » | *69,0* | *70,0* |
| » » 3. » | *48,0* | *52,0* |
| » » 4. » | *36,0* | *44,0* |
| bis zur 18. » | Mittel 20,4 | Mittel 24,2 |
| in der 19. » | *11,0* | *27,0* |
| » » 20. » | *13,0* | *19,0* |
| » » 21. » | *11,0* | *19,0* |
| bis zur 23. » | Mittel 15,0 | Mittel 23,7 |
| in der 24. » | *16,0* | *27,0* |
| » » 25. » | *12,5* | *26,5* |
| » » 26. » | *12,0* | *23,0* |
| bis zur 32. » | Mittel 14,2 | Mittel 29,8 |
| in der 33. » | *10,0* | *40,0* |
| » » 34. » | *13,0* | *31,0* |
| bis zur 38. » | Mittel 12,7 | Mittel 27,7 |
| in der 39. » | *14,0* | *32,0* |
| » » 40. » | *13,0* | *30,0* |
| » » 41. » | *18,0* | *23,5* |
| bis zur 56. » | Mittel 13,3 | Mittel 31,3 |
| in der 57. » | *14,0* | *29,5* |
| » » 58. » | *12,5* | *26,5* |
| » » 59. » | *10,0* | *22,0* |
| bis zur 62. » | Mittel 14,8 | Mittel 26,4 |
| in der 63. » | *10,0* | *29,5* |
| Sammelabsorptionsrohr 22 | | |
| | 1,230 g | 2,0965 g |

Hefegewicht vorher = 0,2738 Zucker vorher = 9,6805 %
» nach H = 0,2695 » nach H = 6,7003 »
» » O = 0,3720 » » O = 4,7768 »

Hefezahl vorher = 3085 per Volumeinheit
» nach H = 2945 » »
» » O = 3255 » »
je 200 Felder gezählt.

Versuch XIV.

**Gährungs-Versuch mit reinem Sauerstoff.**

| Temperatur 30° C. | Versuch XIV | |
|---|---|---|
| | Hefenstamm 7 | |
| | Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | |
| | Wasserstoff | Sauerstoff |
| In der 1. Stunde | *38,0* | *47,0* |
| » » 2. » | *53,5* | *53,0* |
| » » 3. » | *34,0* | *28,0* |
| bis zur 5. » | Mittel 26,7 | Mittel 25,0 |
| in der 6. » | *27,5* | *17,0* |
| » » 7. » | *15,5* | *16,5* |
| » » 8. » | *8,5* | *10,0* |
| » » 9. » | *7,5* | *12,5* |

Versuch XV.

**Gährversuch mit Nährlösung nach Nägeli:**

Rohrzucker 10 %, weinsaures Ammoniak 1 %, $KH_2PO_4$ 0,2%, $MgSO_4$ 0,04 %, $CaCl_2$ 0,02 %.

| Temperatur 30° C. | Versuch XV | | Chudiakow's Versuch 36 | |
|---|---|---|---|---|
| | Hefenstamm 24 | | | |
| | Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | | | |
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | 30,3 | 31,0 | 49,4 | 47,6 |
| » » 2. » | 48,0 | 54,0 | 54,6 | 52,3 |
| bis zur 7. » durchschnittlich | 48,2 | 55,2 | 50,2 | 52,2 |
| In der 8. Stunde | 86,0 | 98,5 | 51,2 | 49,5 |
| » » 9. » | 87,0 | 120,0 | | |
| » » 10. » | 77,0 | 121,0 | 509,9 | 277,4 |
| bis zur 23. » | — | — | | |
| in der 24. » | 168,5 | 194,5 | 52,1 | 10,4 |

Versuch XVI.

**Gährversuch mit Nährlösung von folgender Zusammensetzung:**

Rohrzucker 10 %, Pepton 1 %, Nägeli's Nährsalze.

| Temperatur 30° C. | Versuch XVI, Hefenstamm 24, Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | | Chudiakow's Versuch 43 | |
|---|---|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | 13,5 | 15,5 | 61,7 | 64,5 |
| » » 2. » | 26,5 | 27,5 | 61,7 | 64,5 |
| bis zur 7. » durchschnittlich | 51,2 | 51,2 | 104,4 | 110,4 |
| in der 8. Stunde | 117,5 | 161,5 | 152,5 | 165,5 |

Versuch XVII.

**Gährversuch mit Nährlösung von folgender Zusammensetzung:**

Rohrzucker 10 %, Ammoniumtartrat 0,75 %, $KH_2PO_4$ 0,08 %, $MgSO_4$ 0,07 %, $Ca(NO_3)_2$ 0,28 %, $KNO_3$ 0,07 %.

| Temperatur 30° C. | Versuch XVII, Hefenstamm 24, Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | | Chudiakow's Versuch 28 | |
|---|---|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | 27,0 | 25,0 | 35,2 | 34,3 |
| » » 2. » | 31,5 | 37,5 | 34,2 | 32,8 |
| bis zur 6. » durchschnittlich | 44,0 | 55,5 | 37,1 | 29,7 |
| in der 7. Stunde | 58,5 | 101,5 | 33,6 | 26,4 |
| » » 8. » | 60,5 | 79,0 | 35,2 | 22,2 |
| bis zur 23. » durchschnittlich | 52,3 | 73,4 | 20,5 | 8,9 |
| in der 24. Stunde | 62,5 | 71,0 | 30,2 | 4,5 |

Versuch XVIII.

**Gährversuch mit der Mayer'schen Nährlösung.**

Rohrzucker 10 %, $NH_4NO_3$ 0,75 %, $KH_2PO_4$ 0,5 %, $MgSO_4$ 0,5 %, $CO_2P_2O_8$ 0,05 %.

| Temperatur 30° C. | Versuch XVIII Hefenstamm 24 Durchleitung von je 2,5 l per Stunde | | Chudiakow's Versuch 31 und 33 | |
|---|---|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | 35,5 | 36,0 | 17,8 | 29,4 |
| » » 2. » | 37,5 | 36,0 | 23,8 | 30,2 |
| bis zur 6. » durchschnittlich | 44,4 | 51,0 | 22,9 | 27,0 |
| in der 7. Stunde | 80,0 | 92,0 | 30,6 | 26,5 |
| » » 8. » | 66,0 | 96,0 | 32,4 | 27,3 |
| » » 27. » | — | — | 27,6 | 7,6 |

Versuch XIX.

**Gährversuch mit der Laurent'schen Nährlösung.**

Rohrzucker 10 %, $(NH_4)_3PO_4$ 0,47 %, $MgSO_4$ 0,01 %, $KH_2PO_4$ 0,075 %.

| Temperatur 29—30° C | Versuch XIX Hefenstamm 24 Durchleitung von Luft 2,5 l per Stunde | | Chudiakow's Versuch 34 | |
|---|---|---|---|---|
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | 10,0 | 8,0 | 43,3 | 43,2 |
| » » 2. » | 14,0 | 20,0 | 44,2 | 42,3 |
| bis zur 6. » durchschnittlich | 27,3 | 20,0 | 48,9 | 41,5 |
| in der 7. Stunde | 52,0 | 69,0 | 48,4 | 39,2 |
| » » 8. » | 47,0 | 49,0 | 42,4 | 37,2 |
| bis zur 23. » durchschnittlich | 52,8 | 57,4 | 31,0 | 13,9 |
| in der 24. Stunde | 83,5 | 177,0 | 42,4 | 3,2 |
| » » 25. » | 77,5 | 77,0 | 39,2 | 4,8 |
| Sammelabsorptionsrohr am Schlusse | 67,5 | 181,0 | | |
| Summa | 1162,5 | 1523,0 | | |

**Tabelle IV.** Versuch XX—XXV.

**Versuche mit Mischungen von Hefenstamm 25 und wilden Hefen.**

| | Versuch XX | | Versuch XXI | | Versuch XXII | | Versuch XXIII | | Versuch XXIV | | Versuch XXV | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hefenst. 25 | u. Bact. Aceti | | u. Bact. Aceti | | und Mycoderma cerevisiae | | und Mycoderma cerevisiae | | Hefenstamm 25 und wilde Hefe aus hefetrübem Bier | | | |
| Temperatur 30 ° C. | Durchleitung v. je 2,5 l pro Stde. | | Durchleitung v. je 2,5 l pro Stde. | | Durchleitung v. je 2,5 l pro Stde. | | Durchleitung v. je 2,5 l pro Stde. | | Durchleitung v. je 2,5 l pro Stde. | | Durchleitung v. je 2,5 l pro Stde. | |
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. St. | *30,5* | *35,0* | *41,5* | *59,0* | *43,0* | *29,0* | *26,5* | *26,0* | *28,5* | *31,5* | *5,0* | *13,5* |
| » » 2. » | *39,0* | *40,0* | *71,5* | *53,0* | *43,0* | *24,0* | *25,0* | *20,0* | | | *8,5* | *12,0* |
| » » 3. » | Mittel | Mittel | *69,5* | *55,0* | | | | | Mittel | Mittel | *10,0* | *11,5* |
| » » 4. » | 26,0 | 35,2 | Mittel | Mittel | Mittel | Mittel | Mittel | Mittel | 14,0 | 17,3 | | |
| » » 5. » | *28,0* | *35,5* | 56,2 | 47,2 | 39,7 | 20,0 | 9,5 | 10,0 | | | Mittel | Mittel |
| » » 6. » | *28,0* | *27,0* | *62,0* | *60,0* | | | | | Mittel | Mittel | 19,0 | 23,6 |
| » » 7. » | *28,0* | *25,5* | *38,0* | *31,0* | *39,0* | *22,0* | *3,5* | *9,0* | 22,0 | 21,0 | | |
| » » 8. » | *27,5* | *28,0* | *14,5* | *24,0* | *36,5* | *17,5* | | | *8,0* | *14,0* | | |
| » » 9. » | | Mittel | | Mittel | Mittel | Mittel | | | | | *49,0* | *45,0* |
| bis zur 22. » | | 19,5 | | 20,5 | 26,2 | 16,0 | | | | | *58,0* | *54,0* |

**Tabelle V.** Versuch XXVI—XXVIII.

**Versuche mit Durchleitung von grösseren Gasmengen.**

| Temperatur 30° C. | Versuch XXVI | | Versuch XXVII | | Versuch XXVIII | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hefenstamm 7 | | Hefenstamm 24 | | Hefenstamm 24 | |
| | Durchleitung von je 4 l per Stunde | | Durchleitung von je 4 l per Stunde | | Durchleitung von je 4 l per Stunde | |
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Std. | *50,0* | *67,0* | *57,0* | *54,0* | | |
| » » 2. » | *70,0* | *100,0* | *65,0* | *51,0* | *18,5* | *12,0* |
| » » 3. » | *31,0* | *25,0* | Mittel | Mittel | | |
| » » 4. » | | | 58,5 | 54,0 | *10,0* | 0 |
| » » 5. » | Mittel | Mittel | *30,0* | *39,0* | | |
| » » 6. » | 19,9 | 17,0 | *33,0* | *26,0* | Hefegewicht: 0,1635 g | |
| » » 7. » | *36,0* | *18,0* | *19,0* | *21,0* | | |
| » » 8. » | *2,5* | *11,0* | *6,5* | *19,0* | | |
| » » 9. » | *0,0* | *8,0* | | | | |
| | Hefegewicht: 0,2738 g | | Hefegewicht: 0,3250 g | | | |

**Tabelle VI.** Versuch XXIX—XXXI.

**Gährversuche mit und ohne Gasdurchleitung.**

| Temperatur 30° C. | Versuch XXIX | | Versuch XXX | | Versuch XXXI | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Reincultur v. Hefe aus einer Brauerei | | Reincultur v. Hefe aus einer Brauerei | | Hefenstamm 7 | |
| | Durchleitung von | | Durchleitung von | | Durchleitung von | |
| | Wasserstoff 2 l p. Std. | ohne | Luft 2 l p. Std. | ohne | Luft $2^1/_2$ l p. Std. | ohne |
| Nach $6^1/_2$ Std. | 770,5 | 822,0 | — | — | — | — |
| » 7 » | — | — | 1,1170 | 1,4200 | 0,6165 | 0,6880 |

Die Gährung wurde in der Weise unterbrochen, dass das Wasserbad auf 50—60° C. erwärmt und zugleich Luft durchgeleitet wurde.

**Tabelle VII.** Versuch XXXII und XXXIII.

**Schüttelversuche.**

| Temperatur 30° C. | Versuch XXXII Hefenstamm 7 Durchleitung von | | Versuch XXXIII Hefenstamm 7 Durchleitung von | |
|---|---|---|---|---|
| | Controle | Luft | Wasserstoff | Luft |
| In der 1. Stunde | *26,0* | *31,5* | *41,5* | *58,1* |
| » » 2. » | *34,0* | *31,0* | *57,0* | *55,0* |
| | | [1]) | wie im Versuch XXXII $3^1/_2$ Std. behandelt | |
| bis zur 5. » | Mittel 18,0 | | | |
| in der 6. » | *17,5* | *1,5* | Mittel 29,4 | — |
| » » 7. » | *10,0* | *1,0* | *21,5* | *20,0* |
| » » 8. » | — | — | *19,0* | *14,0* |

**Tabelle VIII.** Versuche XXXIV—XXXVII.

**Schüttelversuche mit Nährlösungen im Schüttelapparate.**

| Temperatur 29—30° C. | Versuch XXXIV Hefenstamm 24 Luftdurchleitung von je 2,5 l per Stunde | | Versuch XXXV Hefenstamm 24 Luftdurchleitung von je 2,5 l per Stunde | |
|---|---|---|---|---|
| | Mit Rohrzuckerlösung 10% | Mit Bierwürze | Mit Rohrzuckerlösung 10% | Mit Bierwürze |
| In der 1. Std. | 31,0 | 24,3 | 17,0 | 23,0 |
| » » 2. » | 32,0 | 32,5 | 31,0 | 35,2 |
| | [2]) | | [3]) | |
| » » 1. » | 22,0 | 148,5 | 24,5 | 103,0 |
| » » 2. » | 23,0 | 167,5 | 30,0 | 112,0 |
| » » 3. » | 27,5 | 237,5 | — | — |

1) Nach der 2. Stunde wurde die Flüssigkeit $2^1/_2$ Stunden in einem Schüttelapparat geschüttelt (per Minute 200 Touren), hernach wieder in das Gährgefäss gebracht und $2^1/_2$ l Luft per Stunde durchgeleitet.

2) Nach der 2. Stunde wurde jede der beiden Flüssigkeiten während 3 Stunden in einem Schüttelapparate (per Minute 400 Touren) geschüttelt; hierauf zurück in die Gährgefässe, dann je 2,5 l Luft per Stunde mit $CO_2$-Absorption durchgeleitet.

3) Wie im Versuch XXXIV.

**Schüttelversuche mit Nährlösung durch starkes Luftdurchleiten.**

| Temperatur 29—30° C. | Versuch XXXVI | | Versuch XXXVII | |
|---|---|---|---|---|
| | Hefenstamm 24 | | Hefenstamm 24 | |
| | Luftdurchleitung von je 2,5 l per Stunde | | Luftdurchleitung von je 2,5 l per Stunde | |
| | Mit Rohrzuckerlösung 10% | Mit Bierwürze | Mit Rohrzuckerlösung 10% | Mit Bierwürze |
| In der 1. Std. | 44,0 | 48,8 | 36,0 | 44,5 |
| » » 2. » | 35,0 [1] | 57,4 | 36,5 [2] | 58,5 |
| » » 1. » | 17,5 | 73,5 | 27,0 | 92,0 |
| » » 2. » | 14,0 | 128,0 | 10,0 | 148,0 |
| » » 3. » | 8,5 | 159,5 | — | — |

**Tabelle IX.**

**Zusammenstellung der ausgeführten Alkoholbestimmungen.**

| Temperatur: | 30° C. | | | |
|---|---|---|---|---|
| Dauer des Versuches: | 6 Tage | | 4 Tage 2 Stunden | |
| Hefe: | gut gewaschene Brauereihefe | | | |
| | bei Durchleitung von je ca. 2,5 l per Stunde | | | |
| | Wasserstoff | Luft | Wasserstoff | Luft |
| Gesammtmenge $CO_2$ . . | 1,7685 g | 2,8675 g | 2,3472 g | 2,4395 g |
| Menge Alkohol . . . . | 1,939 » | 2,96 » | 2,23 » | 2,23 » |
| In der 1. St. Menge $CO_2$ | — | — | 50 mg | 52 mg |

1) Nach der 2. Stunde wurden durch die Flüssigkeit in den Gährgefässen bei Zimmertemperatur 270 l Luft (innerhalb 3 Stunden) durchgeleitet. Hierauf wurden wieder bei 30° C. 2,5 l Luft per Stunde mit $CO_2$-Absorption durchgedrückt.

2) Ebenso wie in Versuch XXXVI (390 l Luft innerhalb 3 Std.)

## Tabelle X.

**Zusammenstellung der ausgeführten Zuckerbestimmungen (n. Allihn) vor und nach dem Versuche.**

| | Hefenstamm 7 | | | | Hefenstamm 24 | | | | Hefenst. 25 | | Hefenst. 25 | | Hefenst. 7 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | bei Durchleitung von | | | | bei Durchleitung von | | | | bei Durchleitung von | | bei Durchleitung von | | bei Durchleitung von | |
| | H | Luft | H | Luft | H | Luft | H | Luft | H | Luft | H | Luft | H | Luft |
| Zuckermenge vor dem Versuche . . | 8,417 | | 8,8350 | | 9,177 | | ca. 9,0 % | | ca. 9,0 % | | 8,6830 | | 9,6805 | |
| Stunden d. Gährung | 70 | 70 | 78 | 78 | 134 | 134 | 110 | 110 | 113 | 113 | 115 | 68 | 63 | 63 |
| Zuckermenge nach dem Versuche . | 2,9754 | 2,4054 | 4,2408 | 3,6556 | 0,1714 | Spur | 1,8335 | 1,6378 | Spur | Spur | 0,0249 | Spur | 6,7003 | 4,7768 |
| Gefund. Gesammtkohlensäure . | 2,3115 | 2,5935 | 1,6560 | 2,1365 | 3,7135 | 4,2178 | 2,8108 | 3,1870 | 2,7105 | 3,9695 | 3,9285 | 3,8265 | 1,2300 | 2,0965 |
| Theoret. berechnete Menge $CO_2$ . . . . 100 Zuck. = 46,6 $CO_2$ | 2,5379 | 2,8014 | 2,1408 | 2,4136 | 4,1966 | 4,2406 | — | — | — | — | 4,0346 | 4,0462 | 1,3887 | 2,2851 |
| Differenz . . . . . | -0,2264 | -0,2079 | -0,4848 | -0,2771 | -0,4831 | -0,0228 | — | — | — | — | -0,1061 | -0,2197 | -0,1587 | -0,1886 |
| | | | | | | | | | | | aus Versuch XII | | aus Versuch XIII | |

**Tabelle XI.**

**Zusammenstellung der ausgeführten Hefegewichtsbestimmungen (bei 95—100° C.)** vor und nach dem Versuche.

| Hefenstamm | Beendigung der Gährung nach | Vor dem Versuche | Nach dem Versuche bei Durchleitung von | |
|---|---|---|---|---|
| | | | H | Luft |
| 7 | 63 Stunden | 0,2738 | 0,2695 | 0,3730 |
| 24 | 24 » | 0,1535 | 0,1595 | 0,1810 |
| 24 | 47 » | 0,2465 | 0,2655 | 0,3035 |
| 24 | 50 » | 0,2465 | 0,2408 | 0,3290 |
| 24 | 33 » | 0,4990 | 0,6080 | 0,5900 |

**Tabelle XIII.**

**Diffusion von Zucker in Bierwürze-Gelatine** mit 10 % Traubenzucker. Nach 5 Tagen bei 24° C.

| | Versuch a | Versuch b | Versuch c |
|---|---|---|---|
| | 250 g erstarrte Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker. Inficirung an d. Oberfläche | Auf 250 g erstarrte Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker aufgerollt: 50 g Hefeabkochung-Gelatine. Dann Inficirung an der Oberfläche | Auf 200 g erstarrte Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker aufgerollt: a) 100 g Hefeabkochung-Gelatine. Nach dem Erstarren weitere b) 100 g Hefeabkochung-Gelatine aufgerollt. Schliesslich Inficirung an der Oberfläche |
| $CO_2$ . . | 18,207 | 14,645 | 16,665 |
| Alkohol | 13,6 | 14,55 | 11,12 |

**Tabelle XIV.**

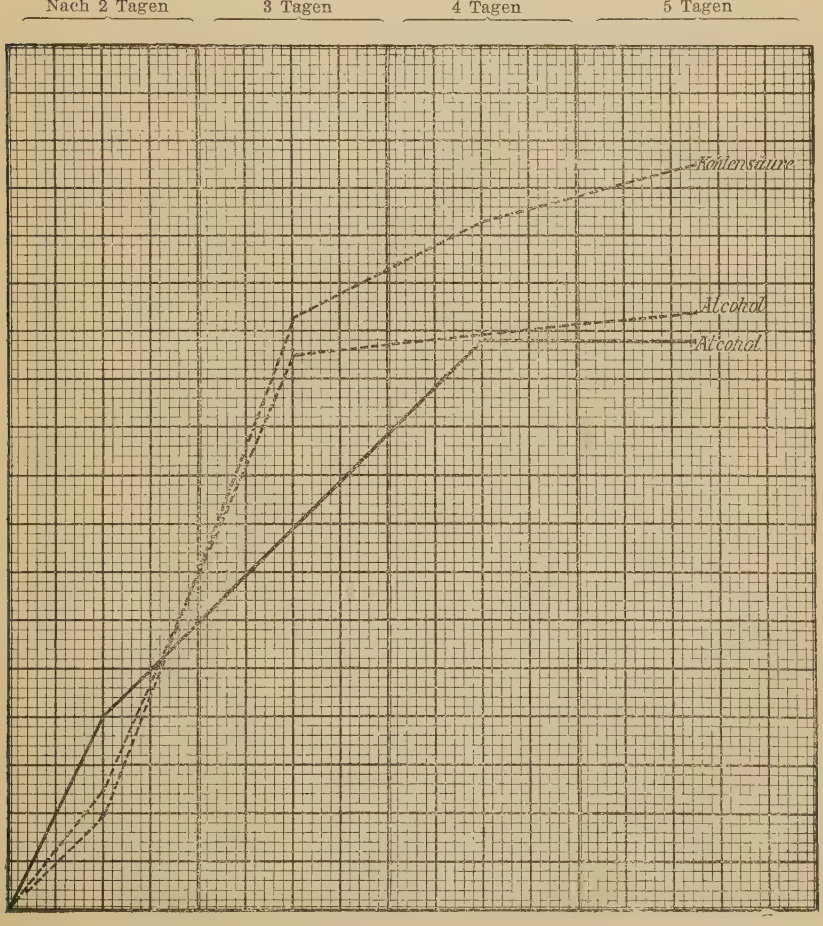
**Alkoholbestimmungen bei Oberflächenwachsthum u. bei beschr. Luftzufuhr** ausgeführt am 2., 3., 4. und 5. Tage der Gährung. Temperatur 24° C.

| Gährung A | Auf Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker | | Versuch a je 200 g | Versuch b 200 g |
|---|---|---|---|---|
| Oberflächen-Wachsthum | Nach 2 Tagen | $CO_2$ | — | 1,940 |
| | | Alkohol | 3,12 | 2,49 |
| | » 3 » | $CO_2$ | — | 12,21 |
| | | Alkohol | 12,65 | 11,42 |
| | » 4 » | $CO_2$ | — | 14,297 |
| | | Alkohol | 11,27 | 11,8 |
| | » 5 » | $CO_2$ | — | 15,493 |
| | | Alkohol | 11,27 | 12,42 |
| | Hefegewicht | | 1,28 | — |
| | Verhältniss von H : Z | | 1 : 17,6 | — |

(Schluſs auf S. 55.)

(Schluſs von Tab. XIV.)

| Gährung B | Auf Bierwürze mit 10 % Traubenzucker | | Versuch a je 200 g | Versuch b 200 g |
|---|---|---|---|---|
| Wenig Luft | Nach 2 Tagen | $CC_2$ | — | — |
| | | Alkohol | 3,99 | — |
| | » 3 » | $CO_2$ | — | — |
| | | Alkohol | 4,89 | — |
| | » 4 » | $CO_2$ | — | — |
| | | Alkohol | 11,65 | — |
| | » 5 » | $CO_2$ | 11,88 | — |
| | | Alkohol | 11,65 | — |
| | Hefegewicht | | 0,4812 | — |
| | Verhältniss von H : Z | | 1 : 48,4 | — |




Schema A. ---------- bei Oberflächenwachsthum.
Schema B. ———— bei wenig Luftzutritt.

**Tabelle XII.**
**Zusammenstellung der Versuche mit Oberflächenwachsthum.**

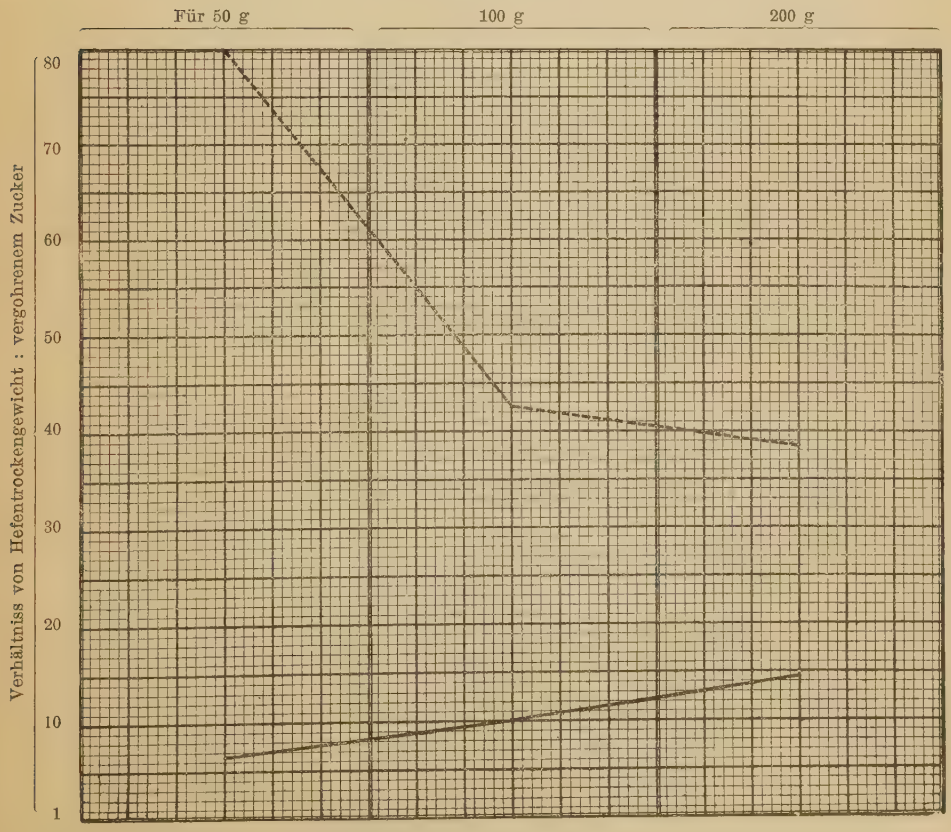
| Gährung bei 24° C. nach 5 Tagen | | I. | II. | III. | IV. | V. | VI. | VII. | VIII. | IX. | X. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Versuch | | | | | | | | | |
| Gährung A Oberflächen-Wachsthum | Angewendete Bierwürzegelatine mit 10% Traubenzucker in g | 250,0 | 250,0 | 250,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 250,0 |
| | $CO_2$ | 19,23 | 20,94 | 22,46 | 16,906 | 17,431 | 16,493 | 15,305 | 17,27 | 16,197 | 18,207 |
| | Alkohol | 12,77 | 14,25 | 15,14 | 10,02 | 11,90 | 10,89 | 10,36 | 11,27 | 11,27 | 13,6 |
| | Hefegewicht | 1,683 | 1,5916 | 2,0984 | 1,4019 | 1,374 | 1,3525 | 1,1777 | 1,1945 | 1,28 | 1,515 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergohrenem Zucker | 1 : 15,1 | 1:17,9 | 1 . 14,4 | 1 : 14,3 | 1 : 17,3 | 1 : 16,1 | 1 : 17,5 | 1 : 18,8 | 1 : 17,6 | 1 : 17,9 |
| | Nach Pasteur würden treffen auf | 12,77 Alkoh. | 14,25 | 15,14 | 10,02 | 11,90 | 10,89 | 10,36 | 11,27 | 11,27 | 13,6 |
| | (48,3 $CO_2$ : 46,4 Alkohol) | 13,29 $CO_2$ | 14,83 | 15,76 | 10,43 | 12,38 | 11,33 | 10,78 | 11,73 | 11,73 | 14,14 |
| | Demnach Ueberschuss an $CO_2$ | 5,94 | 6,11 | 6,70 | 6,476 | 5,051 | 5,163 | 4,525 | 5,54 | 5,467 | 4,067 |
| | Dieser Ueberschuss an $CO_2$ entspricht oxydirtem Traubenzucker in g | 4,45 | 4,58 | 5,025 | 4,85 | 3,78 | 3,87 | 3,39 | 4,15 | 4,10 | 3,05 |
| Gährung B wenig Luft | Bierwürze mit 10% Traubenzucker in Erlenmeyerkolben nach Meissl | 250,0 | 250,0 | 250,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | 200,0 | |
| | $CO_2$ | 17,09 g | 18,35 | 15,15 | 14,367 | 13,398 | 11,434 | 12,564 | 15,110 | 10,85 | |
| | Alkohol | 23,35 » | 19,39 | 16,45 | 12,86 | 11,50 | 11,08 | 12,54 | 14,73 | 11,65 | |
| | Hefegewicht | 1,033 | 0,9151 | 0,8232 | 0,7492 | 0,7515 | 0,5986 | 0,5576 | 0,64 | 0,481 | |
| | Verhältniss von Hefe zu vergohrenem Zucker | 1 : 45,2 | 1 : 42,3 | 1 : 39,9 | 1 : 38,5 | 1 : 35,6 | 1 : 38,2 | 1 : 44,8 | 1 : 46,0 | 1 : 48,4 | |

**Tabelle XV.**

**Gährung mit verschiedenen Mengen Vergährungsmaterial.**

Versuche nach 5 Tagen beendet. Temperatur 24° C.

| Gährung A | Auf Bierwürze-Gelatine mit 10% Traubenzucker | 200 g | 100 g | 50 g |
|---|---|---|---|---|
| Oberflächenwachsthum | $CO_2$ | 16,906 | 7,828 | 4,919 |
| | Alkohol | 10,02 | 4,35 | 2,00 |
| | Hefegewicht | 1,4019 | 0,8653 | 0,6050 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergorenem Zucker | 1 : 14,3 | 1 : 10,0 | 1 : 6,6 |
| **Gährung B** | **Bierwürze mit 10% Traubenzucker** | **200 g** | **100 g** | **50 g** |
| Wenig Luft | $CO_2$ | 14,367 | 7,722 | 3,867 |
| | Alkohol | 12,42 | 6,73 | 3,67 |
| | Hefegewicht | 0,7492 | 0,316 | 0,0911 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergorenem Zucker | 1 : 38,5 | 1 : 42,6 | 1 : 80 |




Schema A. ——— bei Oberflächenwachsthum. Schema B. - - - - - - bei wenig Luftzutritt.

**Tabelle XVI.**

**Oberflächencultur von Hefe auf Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker.**

Mit H-Durchleitung in 2 Erlenmeyerkolben mit ganz flachem Boden.

Temp. 24° C. Versuch nach 4 Tagen beendet.

| Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker | 100 g |
|---|---|
| $CO_2$ . . . . . | 5,188 |
| Alkohol . . . . . | 6,3 |
| Hefegewicht . . . . . | 0,581 |

**Tabelle XVII.**

**Gährversuch mit einer seit 18 Monaten auf Bierwürze-Agar im Laboratorium gezüchteten Hefe.**

Temp. 24° C. Versuch nach 5 Tagen beendet.

| Gährung A | Auf erstarrter Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker Inficirung an der Oberfläche | Versuch a<br>200 g | Versuch b<br>200 g |
|---|---|---|---|
| Oberflächen-wachsthum | $CO_2$ | 16,493 | 15,305 |
| | Alkohol | 10,89 | 10,36 |
| | Hefegewicht | 1,3525 | 1,1777 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergorenem Zucker | 1 : 16,1 | 1 : 17,5 |

| Gährung B | In Bierwürze mit 10 % Traubenzucker | 200 g | 200 g |
|---|---|---|---|
| Wenig Luft | $CO_2$ | 11,434 | 12,564 |
| | Alkohol | 11,08 | 12,54 |
| | Hefegewicht | 0,5986 | 0,5576 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergorenem Zucker | 1 : 38,2 | 1 : 44,8 |

**Tabelle XVIII.**

**Gährkraft von rein gewonnener Hefe aus Versuch I und III** (Tab. XII).
Näheres im Text.

| | | Aus Vers. I | Aus Vers. III |
|---|---|---|---|
| Bei Oberflächenwachsthum gewonnene Hefe | Hefegewicht gewonnen aus 250 g 10 proc. Traubenzucker-Bierwürze-Gelatine. Rollcultur . | 1,683 | 2,0984 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergohrenem Zucker war . . . | 1 : 15,1 | 1 : 14,4 |
| | Hievon Hefe verwendet entsprechend Trockensubstanz in g . . . . . | 0,3058 | 0,2304 |
| | 10 procent. Traubenzuckerlösung steril, angewendet in ccm . | 100 | 50 |
| | Gewonnene $CO_2$ in 48 Stunden bei 22° C. . . . . | 2,1 | 2,170 |
| | Hefezählung . . . pro 1 ccm | 7,7 Mille | — |
| | Hefegewicht nach dem Versuch | — | 0,2580 |
| | Mikroskopische Untersuchung . | wenig Speossungen | viele Sprossungen |
| Bei wenig Luftzutritt gewonnene Hefe | Hefegewicht gewonnen aus 250 g 10 proc. Traubenzucker-Bierwürze . . . . . | 1,033 | 0,8232 |
| | Verhältniss von Hefe zu vergohrenem Zucker war . . . | 1 : 45,2 | 1 : 39,9 |
| | Hievon Hefe verwendet entsprechend Trockensubstanz in g . . . . . | 0,3058 | 0,2304 |
| | 10 procent. Traubenzuckerlösung steril, angewendet in ccm . | 100 | 50 |
| | Gewonnene $CO_2$ in 48 Stunden bei 22° C . . . . . | 1,57 g | 2,083 |
| | Hefezählung . . . pro 1 ccm | 6,6 Mille | — |
| | Hefegewicht nach dem Versuch | — | 0,2567 |
| | Mikroskopische Untersuchung . | viele Sprossverbände | viele Sprossungen |

**Tabelle XIX.**

**Gährversuch:** a) an der Oberfläche und
b) in der Tiefe von Bierwürze-Traubenzucker-Gelatine.
Temp. 24° C. Gährung nach 5 Tagen.

| a) Auf 250 g erstarrter Bierwürze-Gelatine mit 10 % Traubenzucker Inficirung mit Hefe an der Oberfläche | | b) In 200 g Gelatine dieselbe Hefenmenge vertheilt, erstarrt und Ueberzug von weiteren 50 g Traubenzucker-Bierwürze-Gelatine |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . | 18,207 | 16,31 |
| Alkohol . . . . . | 13,60 | 18,05 |
| Hefegewicht . . . . . | 1,515 | — |
| Verhältn. v. Hefe zu verg. Zuck. | 1 : 17,9 | — |